

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

*1.1.1.1.1.1 E.A.P. DE ODONTOLOGÍA*

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE CAESALPINIA  
SPINOSA(TARA) SOBRE PORPHYROMONAS  
GINGIVALIS**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional De Cirujano Dentista

**AUTOR**

Alex Montenegro Chipana

**Lima – Perú**

**2014**

## **MIEMBROS DEL JURADO**

**Presidente:** Mg. Blg°. Sofía Belinda Espinoza Escajadillo

**Miembro:** Mg. Esp. Sergio Francisco Alvarado Menacho

**Miembro asesor:** Mg. C.D. Donald Ramos Perfecto

## DEDICATORIA

En primer lugar a Dios, quien es el que guía nuestro sendero para ir siempre por el buen camino.

A mis hermanos Roger, Marlene y Raúl por el cariño que siempre me mostraron.

A mi esposa Magally por su paciencia y apoyo en todo este tiempo.

A mis dos amores Alex y Thaís, mis lindos hijos, quienes me motivan a salir adelante.

De manera muy especial a mis padres Benigno y Rosa, por su esfuerzo para poder realizarme como profesional.

## AGRADECIMIENTOS

A mi asesor Mg. C.D. Donald Ramos Perfecto, por su paciencia en la orientación y elaboración de este trabajo.

A la Mg. Blg°. Sofía Belinda Espinoza Escajadillo, por su apoyo en la revisión de este trabajo.

Al Mg. Esp. Sergio Francisco Alvarado Menacho, también por su apoyo en la revisión de este trabajo.

Al Q.F. Fritz Choquesillo Peña, Director de CENPROFARMA por su apoyo en la preparación de las cinco concentraciones del extracto de tara y el análisis fitoquímico que se realizó en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM bajo su supervisión.

## RESUMEN

La periodontitis es una enfermedad de etiología infecciosa que presenta como síntomas el sangrado e inflamación de encías, movilidad dentaria, recesiones gingivales, en las que diversas enfermedades sistémicas favorecen su progresión. Uno de estos agentes más importantes es *Porphyromonas gingivalis*, especie bacteriana anaeróbica estricta, Gram negativo. A su vez, el uso de antibióticos sistémicos está indicado sólo en ciertos tipos de periodontitis, y no siempre el tratamiento es exitoso. Hoy en día, tanto en medicina general como odontológica, se está investigando nuevas alternativas de tratamientos antibacterianos, dado el continuo aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales y por las reacciones adversas que estos producen en algunos pacientes.

El objetivo principal de este trabajo de investigación es determinar la actividad antibacteriana de un extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*. Este estudio es de tipo experimental, prospectivo, comparativo e *in vitro*. Se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la UNMSM.

Para realizar este estudio se utilizó cepas de *Porphyromonas gingivalis* previamente identificadas por los laboratorios MICROBIOLOGIC, las cuales fueron importadas a través de una Casa Comercial “GENLAB”.

El estudio investigó la actividad antibacteriana, del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* “tara” en cinco concentraciones (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml) sobre la cepa ATCC 33277 *Porphyromonas*

*gingivalis* mediante el test de difusión en Agar, se encontró que el extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* (tara) posee actividad antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis*, aunque entre las cinco concentraciones no existe diferencia significativa.

## INDICE

RESUMEN.....	V
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
2.1. Área problema.....	3
2.2 Delimitación del problema.....	4
2.3 Formulación del problema.....	6
2.4 Objetivos de investigación.....	6
2.4.1 Objetivo general.....	6
2.4.2 Objetivos específicos.....	6
2.5 Justificación de la investigación.....	7
2.6 Limitación de la investigación.....	8
III. MARCO TEÓRICO.....	9
3.1 Antecedentes del problema.....	9
3.2 Bases teóricas.....	15
3.2.1 La tara.....	15
3.2.1.1 Descripción botánica de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	15
3.2.1.2 Distribución geográfica de la <i>Caesalpinia spinosa</i> .....	17
3.2.1.3 Hábitad.....	17
3.2.1.4 Ubicación taxonómica.....	18
3.2.1.5 Composición química de la tara.....	18
Tanino.....	19
Características.....	21
Actividad terapéutica.....	22
Clasificación.....	22
Taninos hidrolizables.....	23
Taninos condensados.....	23

Flavonoides.....	25
Características.....	25
Actividad terapéutica.....	25
Clasificación.....	26
3.2.2 Ecología de bolsa periodontal.....	26
Enfermedad periodontal.....	26
Etiopatogenia.....	29
<i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	33
Taxonomía.....	34
Nutrición.....	35
Factores de virulencia.....	36
IV. HIPÓTESIS.....	39
V. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	39
VI. METODOLOGÍA.....	42
6.1. Tipo de Investigación.....	42
6.2. Obtención de la muestra.....	42
6.3. Preparación de las soluciones.....	42
6.4. Prueba de actividad bacteriana.....	44
6.5. Recolección de datos.....	46
6.6. Análisis de resultados.....	46
6.7. Materiales.....	47
Recursos Ambientales.....	47
Recursos Materiales.....	47
VII. RESULTADOS.....	49
VIII. DISCUSIONES.....	61
IX. CONCLUSIONES.....	64
X. RECOMENDACIONES.....	65



X.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
VIII.GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	73
VIII. ANEXOS.....	75
8.1 (Ficha de recolección de datos).....	75
8.2 (Tamizaje fitoquímico de <i>Caesalpinia Spinosa</i> ).....	76
8.3 (Constancia del Museo de Historia Natural).....	77
8.4 (Diagrama del enfrentamiento de <i>P.gingivalis</i> y la tara).....	78

## INDICE DE TABLAS

TABLA 01 (Halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> según las diferentes concentraciones del extracto de <i>C.spinosa</i> ).....	50
TABLA 02 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> para la concentración de 6.25% de <i>C.spinosa</i> ).....	54
TABLA 03 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> para la concentración de 12.5% de <i>C.spinosa</i> ).....	55
TABLA 04 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> para la concentración de 25% de <i>C.spinosa</i> ).....	56
TABLA 05 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> para la concentración de 50% de <i>C.spinosa</i> ).....	57
TABLA 06 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P.gingivalis</i> para la concentración de 75% de <i>C.spinosa</i> ).....	58
TABLA 07 (Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P. gingivalis</i> según las diferentes concentraciones del extracto de <i>C. spinosa</i> ).....	59
TABLA 08 (Actividad antibacteriana del extracto de <i>C. spinosa</i> sobre <i>P. gingivalis</i> ).....	60

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 01(Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P. gingivalis</i> por sus diferentes concentraciones).....	52
FIGURA 02 (Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de <i>P. gingivalis</i> para las 4 placas).....	53
FIGURA 03 (Planta de <i>C. spinosa</i> ).....	79
FIGURA 04 (Vainas de <i>C.spinosa</i> recolectadas).....	79
FIGURA 05 (Lavado de las vainas de <i>C.spinosa</i> ).....	80
FIGURA 06 (Dilución para la desinfección de las vainas de <i>C.spinosa</i> ).....	80
FIGURA 07 (Agua destilada para lavado final de <i>C.spinosa</i> ).....	81
FIGURA 08 (Área de secado).....	81
FIGURA 09 (Separación de las semillas de las vainas).....	82
FIGURA 10 (Pesado del polvo de vainas de <i>c.spinosa</i> ).....	82
FIGURA 11 (Introducción del polvo de <i>C.spinosa</i> ..... en un frasco ámbar)	83
FIGURA 12 (Colocación del solvente dentro del frasco).....	83

FIGURA 13 (Proceso de filtrado).....	84
FIGURA 14 (Extracto listo para ser secado por liofilización).....	84
FIGURA 15 (Preparación de las cinco concentraciones).....	85
FIGURA 16 (Colonias de <i>P.gingivalis</i> una semana después de su activación).....	85
FIGURA 17 (Colonia de <i>P.gingivalis</i> a mayor aumento).....	86
FIGURA 18 ( Mesa de trabajo para el enfrentamiento).....	86
FIGURA 19 ( Tubo con hisopos estériles).....	87
FIGURA 20 (Introducción del hisopo dentro del tubo que contiene la cepa activada).....	87
FIGURA 21 ( Siembra en las placas agar por diseminación).....	88
FIGURA 22 ( Contacto de lo discos con el extracto por saturación).....	88
FIGURA 23 (Colocación de los discos dentro de las placas sembradas).....	89
FIGURA 24 ( Preparación de las placas sembradas para incubarlas).....	89

FIGURA 25 (Colocación de las placas dentro de Jarra de Anaerobiosis).....	90
FIGURA 26 (Colocación en el horno por siete días).....	90
FIGURA 27 (Formación de halos de inhibición).....	91

# I.INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos la población del mundo ha recurrido a las plantas con la finalidad de curar o aliviar alguna dolencia. Las plantas medicinales eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose sus beneficios de generación en generación sin conocer la acción de sus principios activos. En nuestro país el uso de las plantas data de muchos años, actualmente se le conoce como Medicina Folklórica o Tradicional.

La efectividad de la medicina tradicional se ha comprobado a través de la observación y experimentación de sus proveedores y usuarios. Sin embargo, en los últimos años la comunidad científica ha investigado sus principios activos y su acción terapéutica en el tratamiento de algunas enfermedades.

En el Perú se han realizado estudios experimentales de diferentes plantas medicinales, entre ellas la tara (*Caesalpinia spinosa*), llegando a la conclusión de algunas propiedades de sus componentes, entre ellas ser antibacteriana, antihemorrágica, analgésica, antiinflamatoria, etc.

La Tara, es una planta originaria del Perú, utilizada desde la época prehispánica en la medicina folclórica o popular y en años recientes, como materia prima en el mercado mundial de hidrocoloides alimenticios. Por lo tanto el uso empírico de la tara en procesos infecciosos bronquiales nos permite deducir que esta planta tiene efecto antibacteriano.

Teniendo en cuenta que nuestra población necesita alternativas de bajo costo para el tratamiento de infecciones bucales, este trabajo se dirige a comprobar el efecto antibacteriano de la tara sobre un microorganismo de importancia en los procesos periodontales, como lo es *Porphyromonas gingivalis* por ser este un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido, enfermedades cardiacas, parto prematuro y bajo peso al nacer.

## **II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

### **2.1 Área problema**

Las plantas medicinales fueron los primeros medicamentos que conoció el hombre. Con ellos curó sus enfermedades, calmó sus dolores, mitigó sus penas, angustias y preocupaciones, se alucinó, se intoxicó y hasta provocó su muerte<sup>1</sup>.

El uso de plantas medicinales se mantiene en vigencia a través de los años, teniendo, en los últimos años, un rol importante como fuente de medicamentos en zonas rurales<sup>2</sup>.

La producción científica médica relacionada con las propiedades de las plantas es exigua en nuestras revistas médicas, la mayor investigación sobre ellas es creciente y se viene realizando en las universidades nacionales y privadas, por lo cual es menester contribuir con el conocimiento y difusión de sus diferentes usos en la medicina<sup>3</sup>.

De acuerdo a la ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) (1979) una planta medicinal es definida como cualquier especie vegetal que contenga sustancias que puedan ser empleadas con propósitos terapéuticos, o cuyos principios activos puedan servir de precursores en la síntesis de nuevos fármacos<sup>4</sup>.



Dichas plantas presentan una propiedad curativa en virtud a los metabolitos que elaboran, y para que éstas nos proporcionen los efectos deseados debemos ingerir sus principios activos, es decir aquellos componentes que contengan un determinado poder curativo<sup>5</sup>.

La *Caesalpinia spinosa* (c. *spinosa*) “tara” tiene una amplia utilización empírica. Desde la época incaica es usada por sus propiedades curativas como: antiinflamatorio, en forma de gárgaras para infecciones bronquiales, sinusitis; como agua de lavado para los ojos inflamados, infecciones vaginales y micóticas, heridas crónicas y en el diente cariado; como bebida en el dolor de estómago, las diarreas, cólera, reumatismo y como depurativo del colesterol. El uso empírico de la tara para el tratamiento de problemas de las vías respiratorias nos permite inferir que esta planta presenta propiedades antibacterianas con efecto en los microorganismos que la causen, lo que constituirá un recurso alternativo<sup>6</sup>.

## **2.2 Delimitación del problema**

En la actualidad las plantas son utilizadas en la medicina, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar las enfermedades. Un análisis de esta naturaleza debe ser realizado como una acción multidisciplinaria con la intervención de biólogos, químicos, farmacólogos y farmacognosistas<sup>7</sup>.

La *C. spinosa* “tara”, planta original del Perú, es utilizada en años recientes, como materia prima en el mercado mundial de hidrocoloides alimenticios. Estudios realizados en nuestro país, demuestran que en los departamentos de Cajamarca, La Libertad, Ancash, Lambayeque, Amazonas, Ayacucho, Apurímac y Huánuco; existen plantaciones silvestres del árbol comúnmente llamado “tara”, cuyos frutos cuando están maduros pueden contener entre 30 a 60 % de taninos, que sirven como base para la elaboración de otros productos usados en la industria farmacéutica, alimentaria, papelera, etc<sup>8</sup>.

En investigaciones realizadas “*in vitro*” con extracto de *C. spinosa* “tara” se ha demostrado que tiene actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.* y *Shigella flexnerii* y en otras realizadas “*in vivo*” ha demostrado su actividad antiinflamatoria<sup>9</sup>.

Siendo la *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) ya estudiada con otros productos naturales obteniendo resultados esperanzadores<sup>10</sup>, esto motivó realizar el presente trabajo para conocer el efecto antibacteriano del extracto de *C. spinosa* “tara” sobre *P.gingivalis*, a fin de proporcionar una alternativa en el tratamiento de infecciones periodontales, sabiendo que estos son más económicos y están al alcance de los que tienen menos recursos.

Por lo expuesto anteriormente, el presente estudio tiene por objetivo determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto de *C. spinosa* “tara” sobre *P.gingivalis*.

### **2.3 Formulación del problema**

¿Cuál será el efecto antibacteriano *in vitro* de cinco concentraciones de extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara” sobre *Porphyromonas gingivalis*?

### **2.4 Objetivo de investigación**

#### **2.4.1. Objetivo general**

- Determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de cinco concentraciones de extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” sobre *Porphyromonas gingivalis*.

#### **2.4.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” a la concentración de 6.25 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” a la concentración de 12.5 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” a la concentración de 25 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” a la concentración de 50 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Evaluar el efecto antibacteriano del extracto alcohólico de la *C. spinosa* “tara” a la concentración de 75 mg/ml sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.
- Comparar los resultados obtenidos por medición de halos de inhibición generados por las cinco concentraciones del extracto de la *C. spinosa* “tara” para encontrar la concentración más efectiva sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*.

## 2.5 Justificación de la investigación

- Debido a que existen pocos estudios en nuestro medio de la acción antibacteriana de la *Caesalpinia spinosa* (tara) en el campo odontológico, es necesario realizar estudios de su capacidad antibacteriana sobre microorganismos patógenos de la cavidad oral como lo es la *Porphyromonas gingivalis*.
- Uno de los problemas que actualmente enfrentan los tratamientos odontológicos es la resistencia bacteriana ocasionada por el uso indiscriminado de antibióticos por lo cual los productos de origen natural podrían proporcionar una alternativa que complemente los tratamientos de procesos periodontales<sup>6</sup>.

## **2.6 Limitación de la investigación**

La elaboración de las diferentes concentraciones del extracto alcohólico por falta de equipo (liofilizador) para dicha preparación; así como los análisis cuantitativos (estudios de cromatografía de gases líquidos con espectrometría de masas) para identificar componentes de la tara.

### III. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Antecedentes del problema

Debido a las escasas investigaciones relacionadas directamente a evaluar la actividad antimicrobiana de la *Caesalpinia spinosa* “tara” sobre microorganismos orales se considera algunos trabajos que demuestran el efecto antibacteriano.

**WEBERBAVER<sup>11</sup> (1945).** Estudió a la tara botánicamente y lo menciona como una planta medicinal de uso popular nativa del Perú y de América.

**LOPEZ<sup>12</sup> (1998).** En un estudio demostró la actividad antimicrobiana *in vitro* de la *C.spinosa* “tara” bajo la forma de uso popular (cocimiento) contra microorganismo Gram positivo y Gram negativo, *Candida albicans*, *Penicillium sp* y *Aspergillus sp* determinó que especies, procedentes de diferentes regiones del Perú, contienen mayor cantidad de antimicrobianos (taninos). El análisis cualitativo que se le realiza a los extractos de plantas naturales para identificar los compuestos que contiene (screening fitoquímico) demostró que las muestras procedentes de las vainas obtuvieron altas concentraciones de taninos de las especies provenientes de Ayacucho, Cajamarca, no así las de Churín. Los resultados obtenidos en los ensayos de acción antimicrobiana muestran que las vainas y las semillas procedentes de Ayacucho y Cajamarca tienen fuerte actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas. Se concluyó que según el screening fitoquímico en la vaina y en la

semilla se encuentran taninos, flavonoides y péptidos los cuales son los responsables de la acción antimicrobiana de la tara.

**ROJAS<sup>13</sup> (1998).** Realizó un ensayo clínico para el tratamiento de la gingivitis crónica con preparaciones, a manera tradicional, de vainas de *C.spinosa* “tara”, demostraron su eficacia al desaparecer los indicadores clínicos de la inflamación gingival en pocas sesiones (6-8 días, 3-4 sesiones) en comparación con el grupo control que utilizó el doble de tiempo, por lo que se demuestra con este ensayo la propiedad hemostática, antiséptica, antiinflamatoria, anestésica y cicatrizante de la tara. El experimento se realizó con 20 pacientes divididos en dos grupos: experimental y control; el preparado se obtuvo por cocimiento de 3-4 vainas y se aplicó en forma tópica y por enjuagatorios. Al grupo control solo se les trató por destartraje e higiene.

**LIU<sup>14</sup> (2002).** Se hicieron estudios de actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos de las vainas y semillas de *C.spinosa* utilizando cepas Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebselia sp.* Y *Shigella flexneri*) mediante técnica de difusión con disco. Los extractos fueron preparados usando como solvente alcohol-acetona (1:1). Se observó actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas para el extracto de la vaina de tara más no para el de la semilla.

**GARRIDO<sup>2</sup> (2003).** Se realizó la comparación de la actividad antibacteriana *in vitro* de la tara y la tetraciclina frente al microorganismo *Aggregatibacter*

*actinomycescomitans* mostrando que la tetraciclina es más eficaz al desarrollar mayor halo de inhibición que la tara.

**INFANTES<sup>9</sup> (2004).** Determinó el efecto antiinflamatorio de una pasta dental conteniendo tara en el tratamiento de la gingivitis marginal crónica. Al grupo experimental compuesto por 64 niños a quienes se les aplicó esta pasta dental; el sangrado gingival desaparece al noveno día, el enrojecimiento y el edema gingival desaparece al doceavo día y la presencia de puntillado al décimo quinto día, lo que no ocurre al aplicarse una pasta dental placebo (grupo control).

**FERREIRA<sup>15</sup> (2005).** Se estudió un extracto hexánico a base de *C. spinosa*, fue ensayado para comprobar su actividad antifúngica como una alternativa del control de la enfermedad de fusariosis en diversos cultivos así como las manchas de Phoma en las hojas de las plantaciones de café. Los autores consideran que podría ser una alternativa ya que los extractos inhibieron el crecimiento micelial en el rango de 3,95 % a 32,20 % para el *Phoma tarda* y de 7,29 % a 33,83 % para el *Fusarium solani*.

**IANNACONE<sup>16</sup> (2005).** Se realizó un ensayo para evaluar el efecto biocida de un extracto acuoso de *C. spinosa* a la concentración de 20 % sobre adultos de *Sitophilus zeamais* Moyschulsky y *Stegobium paniceum*. No mostró efecto significativo.



**KLOUCEK<sup>17</sup> (2005).** Se realizó un ensayo antibacteriano sobre extractos etanólicos al 80% de nueve plantas obtenidos por maceración durante 5 días, una de las muestras ensayadas fue la *C.spinosa* (vainas); se utilizaron cinco cepas Gram positivas y tres Gram negativas usando el método de microdilución del caldo de cultivo (broth microdilution). Los resultados son poco relevantes para la muestra mencionada a excepción del ensayo contra *Enterococcus faecalis* en el que observó una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 0,5 µg/ml, mientras que para *Bacillus cereus* fue de 8 µg/ml y de 16 µg/ml para *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacteroides fragilis*.

**SHIBATA<sup>18</sup> (2005).** Se realizó un estudio que consistió en el aislamiento del galato de etilo como componente activo de la vaina de tara, lo que condujo a que los autores hicieran ensayos comparativos con diferentes galatos de alquilo, demostrando que la longitud de la cadena alquílica juega un rol importante en esta actividad biológica.

**DE LA CRUZ<sup>19</sup> (2006).** Se determinó el efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara” sobre la viabilidad de *Streptococcus B* hemolítico. Encontrándose que la actividad antibacteriana del extracto de *Caesalpinia spinosa* frente a *Streptococcus β* hemolítico aumenta a medida que se eleva (25 % a 100 %) la concentración del extracto.

**KONDO<sup>20</sup> (2006).** Se realizaron diferentes tipos de extracto: extracto etanólico, acetato de etilo, butanólica y acuosa de las vainas de tara, los cuales fueron

evaluados por su actividad *in Vitro*, en presencia o ausencia de oxacilina, contra la bacteria *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Se observó que la fracción acetato de etilo fue la más activa, por lo que fue sometida posteriormente a fraccionamiento biodirigido, llegando al aislamiento de cuatro galatos del ácido químico, cuyas estructuras fueron determinadas por técnicas espectroscópicas. El compuesto más activo fue el (3, 4,5-tri-O-galloylquinicacid methyl ester) seguido del (3, 4,5-tri-Ogalloylquinic acid), los cuales intensifican de 2 a 500 veces la actividad de la oxacilina contra diferentes cepas de *S.aureus* metilino resistentes.

**MENDOZA<sup>21</sup> (2007).** Una lectina de semillas de *C. spinosa* fue purificada y caracterizada a través de extracción salina. El análisis en SDS-PAGE demostró que la lectina purificada era homogénea, capaz de aglutinar eritrocitos del grupo sanguíneo humano “B” Rh+ con una CIM de 3,86 µg/ml y esta actividad fue inhibida por D-glucosa, D-manosa, D-maltosa. D-glucosamida, N-acetil glucosamida (3,25 Mm) y el agente quelante EDTA (0,31 Mm), lo que sugiere que puede ser considerada como una lectina tipo C. La comparación de la secuencia aminocídica con otras secuencias de vegetales determinó que la lectina de *C.spinosa* tiene homología con lectinas de la familia Leguminosae.

**ESCOBAR<sup>22</sup> (2008).** Se determinó el efecto antibacteriano del extracto alcohólico en diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae* usando inóculos estandarizados con el Nefelómetro de Mc Farland N° 0.5, encontrándose que el promedio de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos con las

diferentes concentraciones ensayadas varía de 34,11 a 43,55 mm. A medida que se aumenta la concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* se obtiene mayor diámetro de halo de inhibición.

**AÑANCA<sup>23</sup> (2009).** Se determinó el efecto antibacteriano del extracto acuoso de vainas de *C. spinosa*, en concentraciones que corresponden a 17,5 ; 16,25 ; 15 ; 13,75 ; 12,5 ; 11,25 ; 10 ; 8,75 ; 7,5 ; 6,25 µg/ml, en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, usando inóculos estandarizados con el Nefelómetro de Mc Farland N° 0.5. Se encontró que se inhibió el crecimiento de *S. aureus* cuya concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 13.7 µg/ml y la concentración mínima letal (CMB) fue de 16.25 µm/ml. Se determinó que el extracto acuoso de *C. spinosa* “tara” tiene actividad antibacteriana “*in vitro*” contra *S. aureus* y *S.pyogenes*.

**SAMPAIO<sup>24</sup> (2009).** En la región amazónica de Brasil los frutos de *Caesalpinia ferrea* Martius fueron utilizados ampliamente como antimicrobiano para curar algunas infecciones orales. En este estudio se determinó la actividad antimicrobiana del extracto de la *C. ferrea* Martius contra los microorganismos patógenos orales más comunes. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para *Cándida albicans*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S.oralis* y *Lactobacillus casei* fueron de 25; 40; 66; 100; 66 µg/ml, respectivamente. Se utilizó la clorhexidina como control positivo y solución salina como control negativo. El extracto de *C. ferrea* Martius inhibió el crecimiento *in vitro* de las bacterias patógenas orales.

**HUARINO<sup>25</sup> (2011).** El objetivo del estudio fue determinar el efecto antibacteriano *in vitro* de diferentes concentraciones del extracto alcohólico de la *Caesalpinia spinosa* “tara” (EACS); mediante el método de difusión en placa se usó la flora mixta salival, para enfrentarlas a las soluciones de 6,25; 12,5; 25, 50 y 75 mg/mL del EACS y compararlas con los controles positivo Clorhexidina 0.12 % y Alcohol 70°. Se determinó que el efecto antibacteriano del EACS sobre flora mixta salival muestra una mayor actividad directamente proporcional a su concentración. Por otro lado, el análisis de EACS mediante el tamizaje fitoquímico demostró alta presencia de taninos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas. De los resultados obtenidos se concluye que se ha evidenciado el efecto antibacteriano sobre la flora mixta salival.

### **3.2 Bases teóricas**

#### **3.2.1 La tara**

##### **3.2.1.1 Descripción botánica de la *Caesalpinia spinosa***

Material vegetal:

La descripción botánica de una muestra de *Caesalpinia spinosa* depositada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM (MHN 5:282, 1941), proporcionada por la Dra. Eleucy Pérez<sup>26</sup>.

- Arbusto: de dos a tres metros de altura de fuste corto, cilíndrico, a veces tortuoso, coloración gris, glabro áspero provisto de aguijones, triangulares aplanados, ramas delgadas pobladas iniciándose casi desde la base, dando la impresión de varios tallos, la parte apical es irregular, con ramitas terminales, con sección circular, de cuatro a seis cm de diámetro, aparasolada poco densas, glabras y con aguijones dispersos (Figura 03).
- Hojas: compuestas bipennadas, alternas, dispuestas en espiral, peciolo hasta de dos a tres cm, raquis de tres a siete cm de longitud, dos a tres pares de pinnas opuestas, foliolos de siete a ocho pares opuestos oblongos, el ápice marginado, diminutamente mucronado, base asimétrica, glabra, nervaduras secundarias de siete a ocho pares (Figura 03).
- Flores: hermafroditas, zigomorfas; cáliz tubular, púber con segmentos obtusos, de tres mm de longitud, el superior con fibras pectinadas; corola con cinco pétalos libres, amarillos, orbiculares, espatulados o raramente oblongos, estambres, filamentos filosos o glandulares, blancos, anteras rojizas, con dehiscencia longitudinal, pistilo curvado verdoso (Figura 03).
- Frutos: legumbres rojizas, oblongas, ligeramente comprimidas de seis a once cm de longitud, indehiscentes de color rosado, con el mesocarpio arenoso, esponjoso, y nueve a doce semillas de unos 1 x 0,5 x 0,3 cm, reniformes, de color marrón pardo con la superficie lustrosa dura, y con uno de los dos lados más grande (Figura 03).

### **3.2.1.2 Distribución geográfica de *Caesalpinia spinosa***

El Perú es el país que tiene mayor área de bosques de tara, con el 80 % de la producción mundial, seguido muy de lejos por Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador y Venezuela. También es cultivada en el norte y este de África, Estados Unidos, Brasil y Argentina.

En el Perú, se encuentra en los valles interandinos secos entre 1000 y 3100 msnm, los departamentos de mayor producción son Cajamarca (41%), Ayacucho (16%), La Libertad (13%), Huánuco (13%), también se reporta su presencia en Huancavelica, Apurímac y Ancash, habiendo nuevas iniciativas en Ica y Lambayeque. En Lima (provincia de Cañete) ya se está cultivando tara orgánica en un arenal en el kilómetro 150 de la Panamericana Sur y se espera que al 2010 totalicen 320 hectáreas de cultivo<sup>27</sup>.

### **3.2.1.3 Hábitat**

Ecorregiones de la costa y la serranía entre los 0-4500 msnm, en bosques secos mayormente a partir de los 1000 msnm, reportada en todos los departamentos del país. Muy usada como cerco vivo, árbol de sombra y árbol ornamental<sup>26</sup>.

#### 3.2.1.4 Ubicación taxonómica<sup>26</sup>.

**Nombre científico:** *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze.

#### **Taxonomía**

**Reino:** PLANTAE

**División:** MAGNOLIOPHYTA

**Clase:** MAGNOLIOPSIDA

**Subclase:** ROSIDAE

**Orden:** FABALES

**Familia:** FABACEAE

**Género.** *Caesalpinia*

**Especie:** *spinosa*

**Nombre Vulgar:** “tara”

#### 3.2.1.5 Composición química de la tara

**De las vainas:** Contiene taninos hidrolizables (galotaninos) en un rango de 40 % a 60 % según las condiciones ecológicas en las que vegeta, la hidrólisis de estos taninos conduce a la separación del ácido gálico; asimismo se han aislado galato de etilo y cuatro galatos del ácido químico correspondiendo a los ésteres metílicos de 4,5-di-O-galoilquínico y de 3,4,5-tri-O-galoilquínico, y a los ácidos 3,4-di-O- galoilquínico y 3,4,5-tri-O-galoilquínico<sup>28</sup>.

**De las semillas:** Del endospermo se ha separado la goma o hidrocoloide galactomanánico en la que los componentes monoméricos galactosa y manosa se encuentran en una relación de 24,41:70,90 (1:2,9). La viscosidad intrínseca permitió determinar su peso molecular promedio en 351400 uma, así mismo la goma da lugar a soluciones acuosas con característica de fluido pseudoplástico con una viscosidad promedio de 4000 cp<sup>29</sup>.

**De las hojas:** Contiene glicósidos, gomas, mucílagos, taninos (12.7 % en la forma de taninos gálicos), antraquinonas: reina, sennósido, agliconas libres, C-glicósidos, aloe-emodina e iso-emodina, esteroides y flavonoides<sup>30</sup>.

## **Taninos**

Los taninos están constituidos por un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa, gelatina).

Para que una estructura polifenólica se pueda considerar tanino, es decir, para que pueda presentar las características que se han indicado, debe tener un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 uma. Por debajo o por encima de estos valores, la estructura no se intercala entre las macromoléculas o si lo hace, no forma estructuras estables.

Los taninos son polímeros polifenólicos producidos en las plantas como compuestos secundarios y que tienen la habilidad de formar complejos con



proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas desempeñando en las plantas una acción defensiva frente a los insectos. Son astringentes (precipitan las proteínas) y curten la piel. Debemos mencionar que la astringencia se explica al acomplejarse los taninos con macromoléculas y provocar la precipitación de las glicoproteínas ricas en prolina que contiene la saliva. Químicamente se diferencian los taninos hidrolizables o hidrosolubles (pirogálicos: se hidrolizan en ácidos fenólicos y azúcares) y los taninos condensados no hidrosolubles (taninos catéquicos y los leucoantocianos; son polímeros muy difíciles de hidrolizar; lo más ampliamente distribuidos en las plantas). Los taninos se presentan en especies de familias vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos, entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos se pueden citar a las siguientes: Leguminosas, Rosaceae, Polygonaceae, Fagaceae, Rhizophoraceae y Myrtaceae.

Son polvos amorfos de color amarillo, aspecto grasiento, poco denso, solubles en agua y alcohol, e insolubles en éter, benceno y cloroformo; cuando se calientan a 210 °C se descomponen produciendo dióxido de carbono y pirogalol<sup>31</sup>.

Es indudable la importancia que los taninos vegetales han adquirido a través de los años, conforme se ha profundizado su conocimiento y encontrando aplicaciones tan variadas. Quizás la aplicación más antigua es en la industria del cuero, para el proceso del curtido, aprovechando su capacidad de precipitar

proteínas; ésta propiedad fue también aplicada en los tejidos vivos, constituyendo la base para su acción terapéutica, empleándolos en medicina en tratamientos del tracto gastrointestinal y para las excoriaciones y quemaduras de la piel. En este último caso las proteínas forman una capa protectora antiséptica bajo la cual se regeneran los tejidos. También se prescriben como astringentes. Externamente, los preparados a base de drogas ricas en taninos, como las decocciones, se emplean para detener pequeñas hemorragias locales; en inflamaciones de la cavidad bucal, catarros, bronquitis, quemaduras, hemorroides, etc. Internamente, son útiles contra la diarrea, enfriamiento intestinal, afecciones vesiculares, y como contravenoso en caso de intoxicación por alcaloides vegetales<sup>32</sup>.

En los últimos años, en los que ha sido posible el aislamiento y determinación estructural de muchos de estos taninos, ha aumentado la investigación de sus actividades biológicas en base a las diferencias estructurales presentes. Desde el punto de vista biológico los taninos son sustancias complejas producidas por las especies vegetales que cumplen funciones antisépticas o de conservación<sup>32</sup>.

### **Características**

Son las siguientes:

- Compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales, de reacción ácida y sabor astringente.
- Precipitan con gelatina, albúmina y alcaloides en solución.
- Con sales férricas dan coloraciones negro azuladas o verdosas.

- Producen un color rojo intenso con ferricianuro de potasio y amoníaco.
- Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas. Esta propiedad, denominada astringencia, fue mencionada anteriormente<sup>32</sup>.

### **Actividad terapéutica**

Las acciones farmacológicas de los taninos están relacionadas con sus principales propiedades. Sus principales son:

- a. Antídotos en intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- b. Astringentes, debido a su capacidad para precipitar proteínas de la piel (curtido de la piel), proteínas salivares, etc. Por su capacidad astringente se usa por vía externa como cicatrizante y por vía interna antidiarréicos.
- c. Antisépticos, tienen una acción bactericida y bacteriostática. También ejercen un efecto antifúngico.
- d. Protectores, los taninos aplicados en forma de pomada de uso externo impermeabilizan la piel y la protegen de los agentes externos.
- e. Antioxidante, son capaces de captar radicales libres e inhibir la peroxidación lipídica. Inhiben la autooxidación del ácido ascórbico (Vitamina C)<sup>33</sup>.

### **Clasificación**

En los vegetales superiores se distinguen, generalmente, dos grupos diferentes de taninos tanto por su estructura como por su origen biogenética: taninos hidrolizables y taninos condensados.

### **Taninos hidrolizables o pirogálicos o hidrosolubles**

Son oligo-o poliésteres de un azúcar (en general glucosa o de un poliol relacionado) y de un número variable de moléculas de ácido fenol (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Los taninos hidrolizables son característicos de dicotiledóneas. Cuando se destilan en seco producen pirogalol. Al tratar los taninos hidrolizables con cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) aparece una coloración azul<sup>33</sup>.

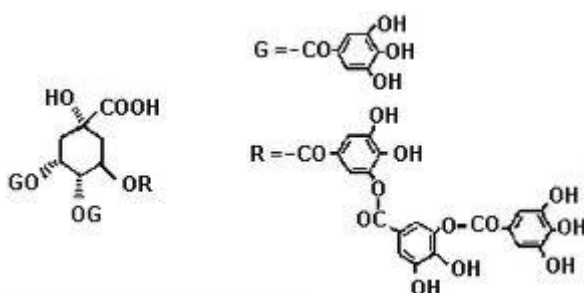
Se hidrolizan con facilidad por la acción de los ácidos, bases o enzimas, en un azúcar, un polialcohol y un ácido fenolcarboxílico. Dependiendo del tipo de ácido que produce por la reacción se subdividen en: galotaninos (ácido gálico) y elagitaninos (ácido elágico o dilactona estable del ácido hexahidroxidifénico). Los núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno.

Como ejemplos de taninos hidrolizables, del subgrupo de galotaninos podemos mencionar al que se obtiene de los frutos de *C.spinosa*. Este tanino es fácilmente hidrolizable por la acción de la enzima tanasa. Esto permitió asignar la estructura de un éster poligaloílico del ácido quínico a dicho tanino, con un peso molecular aproximado de 800<sup>34</sup>.

### **Taninos Condensados o no hidrosolubles**

Los taninos condensados son dímeros o polímeros flavánicos con uniones carbono-carbono entre las diferentes unidades de flavan-3-ol. Se forman por polimerización de catequinas y leucoantocianos. Además de encontrarse en dicotiledóneas se producen en helechos y Gimnospermas. Son muy resistentes

a la hidrólisis. Solo resultan afectados por hidrólisis ácida o enzimática y se convierten en antocianidinas, los cuales pueden polimerizar para formar los flobáfenos insolubles. Por este motivo, reciben también el nombre de taninos catequicos. Al tratar los taninos condensados se encuentran en tres formas principales: extractables (reactivos con proteína), ligados a proteína, y ligados a fibra. Existen leguminosas donde todos los taninos son extractables (*Acacia boliviana*) y en otras donde todos son ligados (*Gliricidia sepium*)<sup>33</sup>.



### TANINO DE TARA

## **Flavonoides**

Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los policétidos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores y se encuentran prácticamente en todas las plantas superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Algunos flavonoides son responsables del color amarillo de ciertas flores<sup>33</sup>.

## **Características**

Son estructuras del tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático por lo tanto son polifenólicas.

## **Actividad terapéutica**

Las diferentes especies que contienen flavonoides poseen acciones farmacológicas muy variadas.

- a. Acción vitamina C (factor antiescorbuto)
- b. Antihemorrágicos
- c. Antirrítmicos
- d. Protectores de la pared vascular o capilar
- e. Antiinflamatorios
- f. Antirradicales libres
- g. Antihepatóxicos
- h. Antibacterianos, antivíricos y antifúngicos

- i. Diuréticos y antiurémicos
- j. Antiespasmódicos

## **Clasificación**

Los flavonoides se clasifican en base a sus variaciones estructurales.

1. Con doble enlace entre las porciones 2 y 3
2. Sin doble enlace entre las porciones 2 y 3
3. Charconas: con el anillo C abierto
4. Isoflavonoides: con el anillo B en la posición 3

Existen también dímeros de flavonoides denominados diflavonoides<sup>33</sup>.

### **3.2.2 Ecología de bolsa periodontal**

## **ENFERMEDAD PERIODONTAL**

### **Definición**

El periodonto está constituido por los tejidos de protección y apoyo del diente; se compone de encía (periodonto de protección), ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar (periodonto de inserción); estos tejidos están sujetos a variaciones morfológicas y funcionales, así como a cambios motivados por la edad<sup>35</sup>.

Las enfermedades periodontales son lesiones con características inflamatorias causadas por una infección por placa bacteriana y/o patógenos específicos.

Existen dos grandes cuadros: gingivitis, la cual corresponde a una respuesta inflamatoria del tejido gingival frente a la acumulación de placa bacteriana, y periodontitis, que corresponde a una patología infecciosa de tipo específica, con características inflamatorias que afecta los tejidos de soporte dentario, es decir, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar <sup>36,37</sup>. A diferencia de la gingivitis, en la periodontitis existe pérdida de inserción conectiva en presencia de sacos periodontales, reabsorción ósea, e inflamación en grados variables . La periodontitis es causada por un sobrecrecimiento de bacterias periodontopatógenas en la placa subgingival, seguida de una respuesta immuno-inflamatoria en un hospedero susceptible<sup>38</sup>.

La Periodontitis no tratada, o tratada inadecuadamente, es la principal causa de pérdida de piezas dentarias en adultos, lo que a su vez trae consecuencias tanto en la estética como en la fisiología y psicología del paciente. Es considerada como factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares, diabetes, parto prematuro y niños de bajo peso al nacer<sup>39,40</sup>.

Resumen de la clasificación de condiciones y patologías periodontales según reporte de la Academia Americana de Periodontología<sup>35</sup>.

- **Gingivitis:**

- Asociada a placa bacteriana
- No asociada a placa bacteriana



- **Periodontitis crónica**
  - Localizada
  - Generalizada
- **Periodontitis agresiva**
  - Localizada
  - Generalizada
- **Periodontitis como manifestación de enfermedades sistémicas**
  - Asociada con trastornos hematológicos
  - Asociada con trastornos genéticos
  - No especificada de otro modo (NEOM)
- **Enfermedades periodontales necrotizantes**
  - Gingivitis úlcero necrotizante (GUN)
  - Periodontitis úlcero necrotizante (PUN)
- **Abcesos del periodoncio**
- **Periodontitis asociada con lesiones endodónticas**
- **Afecciones y malformaciones adquiridas o de desarrollo**
  - Factores localizados relacionados con el diente que modifican o predisponen a enfermedades gingivales o periodontitis inducidas por placa.
  - Malformaciones mucogingivales y lesiones alrededor de los dientes.
  - Malformaciones mucogingivales y afecciones de los rebordes desdentados
  - Trauma oclusal.

## Etiopatogenia

Numerosos estudios han demostrado que las enfermedades periodontales son de naturaleza infecciosa y que los microorganismos presentes en la placa bacteriana, localizada en la región del surco gingivo-dentario o placa subgingival, constituyen el agente etiológico principal de las enfermedades<sup>41,42,43</sup>.

Las bacterias colonizan la superficie dentaria en la región del surco gingivodentario, donde se multiplican y se extienden en dirección apical, formando la placa subgingival o biofilm subgingival, el cual es responsable de albergar un gran número de especies bacterianas. Se han descrito más de 500 de estas especies, entre las cuales, las de mayor prevalencia en la periodontitis son *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (antes *Bacteroides forsythus*) y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, principalmente<sup>44</sup>. Estas bacterias tienen un papel significativo en la patogénesis de la periodontitis, participando en la formación del saco periodontal, la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción del hueso alveolar a través de mecanismos directos e indirectos. Otras especies, como *Fusobacterium nucleatum*, especies de *Campylobacter*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, *Peptoestreptococcus micros* (*Micromonas micros*) y varias espiroquetas, también han sido implicados en periodontitis destructiva. El rol de estas especies bacterianas en la patogénesis de la periodontitis está basado en su alta frecuencia de aislamiento y su potencial patogénico que incluye factores de virulencia, que les permiten evadir los sistemas de defensa del hospedero<sup>45,46</sup>. Estos incluyen la habilidad para unirse a células epiteliales y proteínas de la matriz extracelular, producir una

gran cantidad de proteasas, collagenasas, endotoxinas (LPS), mecanismos de resistencia antibiótica, bacteriocinas, producción de inhibidores quimiotácticos, leucotoxinas, citoquinas metabólicas tóxicas (H<sub>2</sub>S, putrecinas), proteínas inmunosupresoras, etc<sup>46</sup>.

Sin embargo, aunque la infección bacteriana es el agente etiológico de la periodontitis, la respuesta inmune desarrollada por el individuo frente a la agresión bacteriana es en gran medida responsable de los procesos inflamatorios que pueden generar en grado extremo la destrucción de los tejidos duros y blandos del periodonto, adquiriendo importancia entre estos mecanismos, tanto la magnitud de la respuesta, como el balance/desbalance que se establece entre los diferentes componentes de la respuesta inmune<sup>47</sup>.

Los procesos inflamatorios conllevan tanto la activación de macrófagos como la infiltración de leucocitos provenientes desde la sangre. La activación de células inmunocompetentes induce diversos cambios entre los que se incluyen la producción y secreción de citoquinas<sup>47</sup>. Las citoquinas pro-inflamatorias, producidas por células como monocitos-macrófagos, linfocitos y fibroblastos, son sintetizadas y secretadas en respuesta a bacterias, y tienen un papel primordial en la inducción y posterior mantenimiento de la respuesta inflamatoria, como en la destrucción tisular que se produce en la periodontitis<sup>48</sup>.

Estas enzimas proteolíticas también conocidas como metaloproteínas (MMPs), son producidas en todo el organismo por diferentes tipos celulares

tales como leucocitos polimorfonucleares neutrofilos (PMNNs), macrófagos, fibroblastos, células epiteliales, y también por bacterias orales patógenas.

Las MMPs juegan un importante rol en la mantención de la integridad de los tejidos conectivos, pudiendo degradar la mayoría de los componentes de la matriz extracelular. Participan además, en el metabolismo del hueso alveolar que finalmente producen colapso y destrucción del ligamento periodontal y una reabsorción del hueso. Se ha visto que las MMP-9 y MMP-2 se presentan en altos niveles en pacientes con periodontitis activa, en comparación con sujetos sanos, y que luego de someterse a un tratamiento periodontal, su concentración baja notablemente. La importancia de la respuesta inflamatoria del hospedero en la patogénesis periodontal ha presentado la oportunidad para explorar nuevas estrategias en el tratamiento de la periodontitis<sup>49,50</sup>.

Las células del epitelio de unión actúan como una barrera mecánica para el ingreso de microorganismos y como sensores de infección microbiana, generando y transmitiendo señales entre las bacterias y las células de tejidos subyacentes a los tejidos periodontales incluidas células inmunitarias.

*Porphyromonas gingivalis* es capaz de penetrar los tejidos gingivales, y de localizarse intracelularmente en las células del hospedero, alterando así la fisiología celular normal<sup>51</sup>.

La invasión de células por *Porphyromonas gingivalis* afecta la inmunidad innata del hospedero, ya que por ejemplo, la secreción de IL-8 por células epiteliales gingivales es inhibida luego de la invasión bacteriana.

*Porphyromonas gingivalis*, al inhibir las IL-8 en sitios de invasión gingival, podría generar un efecto debilitante en la defensa innata del hospedero, donde la exposición bacteriana es constante. De esta forma, el hospedero no sería capaz de detectar la presencia bacteriana y no activaría a los leucocitos para su remoción, resultando en un sobrecrecimiento bacteriano que contribuiría a una exacerbación de la periodontitis<sup>51</sup>.

Con respecto al impacto que produce *Porphyromonas gingivalis* en el metabolismo del hueso, este microorganismo por una variedad de mecanismos intrincados e interconectados, puede contribuir a la pérdida de hueso alveolar estimulando la reabsorción de hueso e inhibiendo la formación de este. LPS de *Porphyromonas gingivalis* pueden activar a los osteoclastos directamente y causar la liberación de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE)<sub>2</sub>, y citokinas IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  desde los macrófagos, monocitos y fibroblastos. Estos compuestos son potentes mediadores locales de la reabsorción de hueso y además, pueden inhibir la síntesis de colágeno realizada por los osteoclastos e inducir la producción de MMPs del hospedero, las que destruirían hueso y tejido conectivo<sup>51</sup>.

De placa supragingival a subgingival, hay una significativa disminución de *Streptococcus* y especies de *Actinomyces*, acompañada por un incremento de

*Tannerella forsythia* (*Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis*, y *Treponema denticola*<sup>52</sup>.

Las lesiones periodontales son por lo tanto, causadas por un grupo de patógenos más que por una sola especie patógena, y los patógenos más relacionados con la periodontitis son principalmente originarios de la cavidad oral. Pero se ha demostrado que microorganismos superinfectantes tales como bacilos entericos Gramnegativo, *pseudomonas*, *staphylococcus*, levaduras, también habitan los sacos periodontales<sup>53</sup>.

### ***Porphyromonas gingivalis***

#### **Descripción**

*Porphyromonas Gingivalis* (*P.gingivalis*) es un bacilo gramnegativo, anaerobio, no-móvil y asacarolítico. Es el patógeno principal de la periodontitis juvenil generalizada. En la periodontitis crónica su prevalencia es del 40-100 %, es el patógeno más importante y se encuentra en mayor proporción en las bolsas profundas<sup>54</sup>.

*P. gingivalis* forma colonias uniformes de coloración verdosa, parda o negra debido a la hemina que almacena en la superficie celular. Células de *P. gingivalis* tienen un diámetro de 0,5-0,8 µm por 1,0-3,5 µm de largo<sup>55</sup>.

Algunos de los tipos poseen actividad proteolítica, como por ejemplo, *Porphyromonas gingivalis* y *Porphyromonas macacae*, otros son relativamente noproteolíticos. Cuando crecen en complejos carbohidratados (excepto *Porphyromonas gingivalis* asacarolitica) y proteínas, los principales productos

de fermentación son n-butirato, propionato y acetato, y en menor cantidad iso-valerato, iso-butirato, succinato y fenilacetato. Estos productos finales explicarían muchos de los malos olores asociados con infecciones orales<sup>55</sup>.

Como se mencionó anteriormente, *P. gingivalis* es un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido<sup>55</sup>. También, puede producir severas infecciones extraorales, incluyendo mediastinales, de planos faciales, cerebro y abscesos pulmonares<sup>56</sup>, enfermedades cardíacas<sup>57</sup>, parto prematuro y bajo peso al nacer<sup>23</sup>.

*P. gingivalis* es comúnmente detectada en pacientes jóvenes con gingivitis, y pacientes adultos con periodontitis, usando métodos inmunológicos y de biología molecular (reacción en cadena de polimerasa, PCR). Esta especie también se ha encontrado en placas supragingivales maduras, de pacientes jóvenes con o sin destrucción periodontal, sugiriendo que es un patógeno de tipo oportunista, para el cual no está claro aún, si es de origen endógeno o exógeno<sup>38</sup>.

## **Taxonomía**

El género *Bacteroides*, agrupó en su primera clasificación, un conjunto de bacterias heterogéneas, con características de ser anaerobios estrictos, Gram negativo, no esporulados y de forma bacilar, con la aplicación de nuevas técnicas de identificación a base de biología molecular, como el ADN-ADN hibridación, y estudio de sus características bioquímicas, se pudo identificar un

grupo homogéneo de especies a partir de los bacteroides, llamados ahora Porphyromonas, que en sus inicios estuvo formando por 3 especies, *P. gingivalis*, *P. asaccharolyticus* y *P. endodontales*. Estas especies presentaban la característica de ser no fermentadores, utilizar como sustrato el nitrógeno y obtener su energía a partir de tripticasa y peptona. Estudios posteriores a base de la secuencia de rRNA de 16S, han alejado más genealógicamente del género Bacteroides, conociéndose en la actualidad alrededor de 12 especies, habiendo una, *P. Catoniae*, que es sacarolítica<sup>58</sup>.

## Nutrición

*Porphyromonas gingivalis* es una especie proteolítica, asacarolítica, anaerobia estricta, por lo que coloniza sitios en donde la tensión de oxígeno es baja, pero en los cuales hay sustratos abundantes en nitrógeno. El ecosistema subgingival proporciona un medio ambiente ideal para esta especie, ya que, el potencial redox es bajo (y más bajo aún en sacos periodontales), y posee nutrientes endógenos ricos en péptidos y aminoácidos<sup>58</sup>.

*P. gingivalis* tiene un requerimiento obligado de hierro para crecer. Sin embargo, cuando ocurre una falta de hierro en el sistema de poros de la bacteria (sideporos, los cuales quelan hemina) utiliza hemina (hierro protoporfirina IX). Los niveles de hemina en boca son variables y el sangramiento, como resultado de la inflamación gingival, elevaría su concentración subgingival, de modo que este puede ser un factor que predispone a la acumulación de esta bacteria. La hemina que se acumula en la



membrana extracelular actúa como "basurero" de oxígeno ayudando a mantener un microambiente anaerobio<sup>62</sup>.

### **Factores de virulencia**

Se ha demostrado que LPS de esta especie induce la producción de IL-6 e IL-8 desde fibroblastos del ligamento periodontal en humanos. Las evidencias indican que LPS de *Porphyromonas gingivalis*, especialmente su lípido A, es capaz de estimular la respuesta inflamatoria del hospedero indirectamente a través de la producción de citokinas<sup>55</sup>.

*Porphyromonas gingivalis* produce un gran número de enzimas, proteinasas y productos finales de su metabolismo que son activos contra un amplio espectro de proteínas del hospedero, y está provista de mecanismos para evadir las defensas de este. Dichos compuestos corresponden a inhibidores de proteinasas, inmunoglobulinas, proteinasas que contienen hierro, proteínas bactericidas, proteínas de matriz extracelular, y proteínas íntimamente envueltas en funciones fagocíticas, tales como fijación de complemento y coagulación. La mayoría de las actividades enzimáticas de *P. gingivalis* son asociadas a la proteinasa cisteína, la cual le proporciona ventajas metabólicas, ya que le otorga la capacidad de utilizar largas proteínas del hospedero para su crecimiento y desarrollo<sup>55</sup>. Una de las características de virulencia significativas de *P. gingivalis* es este gran número de enzimas hidrolíticas, proteolíticas y lipolíticas, que son producidas esencialmente por todos los tipos de *P.gingivalis* conocidos. Varias de estas proteinasas asociadas a *P.gingivalis* (capaces de hidrolizar péptidos unidos) parecen ser funcionalmente importantes en el

medioambiente *in vivo*. Estos factores de virulencia *in vivo*, si actúan en el hospedero, pueden jugar un rol significativo en la progresión de la periodontitis<sup>55</sup>.

Dentro de las proteínasas de *P. gingivalis* se consideran a las colagenasas y a las aminopeptidasas como críticas en la patogénesis de la bacteria.

Existen proteinasas específicas como arginina y lisina proteinasa, producidas por *P. gingivalis*. Son proteinasas cisteinas, y han recibido un nombre en común, gingipainas. Estas son un potente regulador de la permeabilidad vascular, siendo capaces de inducir la permeabilidad vascular en plasma humano y unirse directamente a bradiquininas. Además, se consideran quimiotácticas para PMNN.

Arg-gingipain es capaz de inactivar especies oxígeno reactivas (bactericidas naturales) producidos por PMNN, el cual es un importante mecanismo en la defensa del hospedero<sup>55</sup>.

Otro tipo de proteinasas que produce *P. gingivalis* para protegerse de los mecanismos de defensa del hospedero son las proteinasas inmunoglobulinas como IgA1, IgA2 e IgG<sup>55</sup>.

Un tipo de proteinasas llamadas caseinolíticas son capaces de degradar colágeno tipo I y IV, IgG humana, fibronectina, y complemento C3, C4, C5 y C5a, también inhiben la actividad bactericida de PMNN<sup>55</sup>.

Existen unas proteínas bacterianas que actúan como factor de virulencia llamadas hemaglutininas. *P. gingivalis* produce a lo menos cinco de ellas. Cuando se expresan en la superficie bacteriana, pueden promover la colonización mediante la unión de bacterias a receptores (usualmente oligosacaridos) en células humanas. Existe una relación entre la capacidad de hemaglutinacion y la actividad proteolítica de *P. gingivalis*, lo que se ha dilucidado mediante análisis genéticos<sup>62</sup>.

## IV. HIPOTESIS

La *Caesalpinia Spinosa* “tara”, presenta actividad antibacteriana *in vitro* sobre *Porphyromonas gingivalis*.

## V. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

**Variable independiente:** Extracto alcohólico de *C.spinosa*.

**Variable dependiente:** Efecto antibacteriano de la *C. spinosa* sobre *Porphyromonas gingivalis*.

**Variables de control**

**Control positivo:** Clorhexidina 0.12 %

**Control negativo:** Alcohol 96°

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN	INDICADORES	ESCALA	CATEGORÍA
Extracto alcohólico de la C. spinosa.	Cantidad de la C. spinosa ( polvo) en un volumen determinado de agua bidestilada	6.25 mg/ml	Nominal	Presente Ausente
		12.5 mg/ml	Nominal	Presente Ausente
		25 mg/ml	Nominal	Presente Ausente
		50 mg/ml	Nominal	Presente Ausente
		75 mg/ml	Nominal	Presente Ausente

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN	INDICADORES	ESCALA	CATEGORÍA
Efecto antibacteriano de la <i>C. spinosa</i>	Es la inhibición en el desarrollo o crecimiento de las bacterias debido a la presencia del extracto alcohólico de <i>C. spinosa</i>	Medida de halo de inhibición formado alrededor del disco con el extracto alcohólico de la <i>C.spinosa</i>	Intervalo	S. nula < 8 mm
				S. límite 9-14 mm
				S. media 15-19 mm
				S.sensible ≥20 mm

## VI. METODOLOGÍA

### 6.1 Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo:

**Experimental;** Porque se va a valorar el efecto de una o más variables, donde el investigador manipula las condiciones de la investigación.

**Prospectivo;** Porque los datos se analizan transcurrido un determinado tiempo en el futuro.

**Comparativo;** Porque permite contrastar los resultados del experimento.

***In vitro*;** Porque la técnica para realizar el experimento se realiza en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

### 6.2 Otención de la muestra

Se usó cepas de *P. gingivalis* previamente identificadas por los laboratorios MICROBIOLOGIC, las cuales fueron importadas a través de una Casa Comercial "GENLAB".

### 6.3 Preparación de las soluciones

La preparación de las cinco concentraciones se realizó en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, CENPROFARMA.

### **Obtención del extracto alcohólico de caesalpinia spinosa:**

Se usó vainas de *C. spinosa* (tara) previamente procesadas. Colectadas las vainas de tara fueron limpiadas y desinfectadas con cloro al 1 % (Figuras 04, 05 y 06).

Una vez desinfectadas las vainas de *C. spinosa* (tara) se procedió a colocarlas en un cuarto de secado por 48 horas para que esté libre de humedad (Figura 08).

Luego se procedió a separar las semillas de las vainas de *C. spinosa* (tara), colocándolas en un mortero para su pulverizado (Figura 09). Se pesó 50 gr. de polvo de las vainas de *C. spinosa* (Figura 10), se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar y se le agregó 200 ml de alcohol 70°, dejándose macerar por 1 semana, agitándolo todos los días (Figura 11 y 12). Al 4<sup>to</sup> día se agregó 100 ml más de alcohol y se siguió agitando hasta completar la semana.

El producto fue filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado será con papel filtro Whatmann N° 2 y por último un tercer filtrado con papel Whatmann N° 1. Obteniéndose un extracto purificado y libre de gérmenes (Figura 13).

Luego se colocó en un frasco de vidrio, de color ámbar para conservación y fue llevado al laboratorio de la Facultad de Química de la UNMSM para ser



secado por liofilización obteniéndose una masa de extracto de seca de *C.spinosa* (Figura 14).

A partir de de esta masa de extracto de *C. spinosa* “tara” se preparó concentraciones de 6,25 ; 12,5 ; 25 ; 50 y 75 mg/ml las cuales fueron guardadas en frascos de color ámbar estériles y conservadas en refrigeración hasta el momento que dichas concentraciones fueron colocadas en discos de papel de filtro para probar su efecto antibacteriano sobre *P. gingivalis*<sup>25</sup> ( Figura 15).

#### **6.4 Prueba de actividad bacteriana**

Una vez adquirida las cepas puras, fueron retiradas del recipiente en el que estuvieron conservadas para sembrarla en una placa agar Schadler suplementado con sangre de cordero al 5% para microorganismos anaerobios. Este paso se realizó en un tiempo no mayor de 5 minutos. Luego se colocó en una jarra de anaerobiosis hasta la reactivación de la cepa (Figura 16 y 17).

Una vez reactivada la cepa, se diluyó la cepa en un tubo de ensayo con 2 ml de agua bidestilada hasta obtener una dilución de Mc Farland 0,5.

Se prepararon las soluciones experimentales y los controles en 6 tubos de ensayo.

Se procedió a realizar la siembra de las bacterias en las placas petri que contienen el agar Schadler, mediante un hisopo (el cual se realizó de manera uniforme sobre la placa) (Figura 21).

Se aplicó las soluciones, una en cada disco, mediante una micropipeta de 10 µl (Figura 22).

Luego se colocó los discos de papel en las placas de agar a una distancia no menor de 15 mm entre sí y a 1,5 cm del borde de la placa (Figura 23).

La siembra de las soluciones se realizó por quintuplicado.

Se realizó el transporte inmediato de las placas hacia la jarra de anaerobiosis (se utilizará las bolsas de anaerobiosis de la marca “ANAEROCULT” de laboratorios MERCK) esperando la formación de halo de inhibición alrededor de los discos en el agar, incubando en condiciones de anaerobiosis a 37 °C por siete días (Figuras 25, 26 y 27).

## **6.5 Recolección de datos**

Se hizo las mediciones de los halos con una regla, sobre la superficie de la placa Petri y con luz refleja.

Para la recolección de datos de la investigación, se utilizó un instrumento que será llenado por el investigador (Anexo 1), luego se organizaron los datos en tablas (1-8) y figuras (1-2).

## **6.6 Análisis de resultados**

El procesamiento se realizó con una computadora Pentium IV, sistema operativo Windows XP con el programa SPSS versión 15. Los datos fueron procesados aplicándose los intervalos de confianza al 95 %.

Para interpretar los resultados obtenidos en la investigación se compararon estos utilizándose el método de análisis estadístico: medias de tendencia central y dispersión; tales como el promedio, máximo, mínimo y desviación estándar. Para establecer las diferencias significativas entre las concentraciones se utilizó las pruebas estadísticas no paramétricas de Kruskal – Wallis. Y para establecer las diferencias significativas entre el grupo control y el grupo de estudio se utilizó la prueba de Mann – Whitney.

## 6.7 Materiales

### Recursos Ambientales

- Apoyo en la preparación del extracto de *C. spinosa* “tara” por el laboratorio de Química Orgánica y el Laboratorio del CENPROFARMA de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Apoyo en el tamizaje fitoquímico (análisis cualitativo) del extracto de *C. spinosa* “tara” por el Laboratorio de Fisicoquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Apoyo en la liofilización del extracto de *C. spinosa* “tara” por la Unidad de Servicios de Análisis Químicos (USAQ) de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Apoyo en la realización del trabajo por el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

### Recursos Materiales

- Escala de Mc Farland.
- Instrumentos para la obtención del extracto alcohólico de tara.

- Instrumentos para la siembra microbiológica.
- Mechero de vidrio.(2)
- Alcohol 70° y clorhexidina 0.12%.
- Agua destilada.(1 galón)
- Tubos de ensayo.
- Papel Whatmann N°41, N°1 y N°2.
- Caja aislante de temperatura para el transporte de las muestras.
- Placas Petri.
- Agar TSA.
- Micropipetas.
- Envases estériles para la recolección de la muestra.
- Estufa de incubación.
- Fichas de recolección de datos y lápices.
- Computadora.
- Programa estadístico SPSS.
- Impresiones.
- Anillados y empastados.

## VII. RESULTADOS

Los resultados fueron clasificados según las cinco concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa*.

Los test de difusión en Agar nos permiten observar la evaluación del efecto antibacteriano de las diferentes concentraciones de *Caesalpinia spinosa* sobre *Porphyromonas gingivalis*.

Los resultados obtenidos para el control negativo, presentaron halo de inhibición de 7mm en dos de los casos.

De las cinco placas que se utilizó para el enfrentamiento en solo una no se evidenció crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*.

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
DE *Caesalpinia spinosa* SOBRE *Porphyromonas gingivalis* MEDIANTE  
EL TEST DE DIFUSIÓN EN AGAR**

**TABLA N° 01 Halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas  
gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de  
*Caesalpinia spinosa***

Concentraciones del extracto de <i>Caesalpinia spinosa</i>														
Halos	75%		50%		25%		12,5%		6,25%		Clx 0,12%		Alcohol 96°	
	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%
6mm	2	50%	1	25%	1	25%	0	0%	1	25%	0	0%	2	50%
7mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	2	50%
8mm	2	50%	0	0%	1	25%	1	25%	0	0%	3	75%	0	0%
9mm	0	0%	1	25%	1	25%	1	25%	1	25%	1	25%	0	0%
10mm	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
11mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%
12mm	0	0%	0	0%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%	0	0%
17mm	0	0%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
24mm	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%
25mm	0	0%	1	25%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%	0	0%
Total	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%
Media	7mm		12,5mm		10 mm		13,5mm		12,5mm		8,25mm		6,5mm	

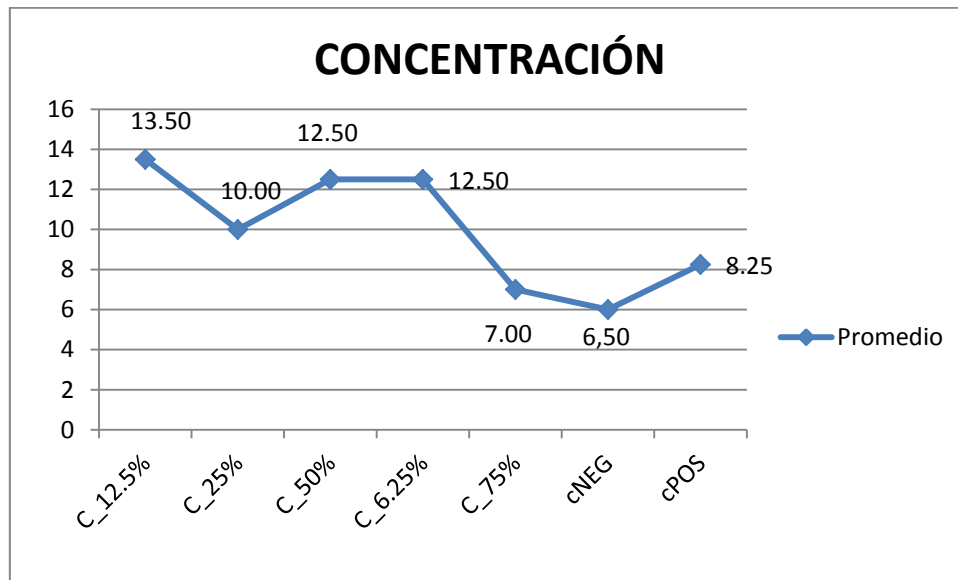
Se puede apreciar que las concentraciones de 6,25 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml y 75 mg/ml del extracto alcohólico de *C. spinosa* "tara" al menos una vez tuvieron un halo de crecimiento nulo es decir 6 mm, excepto la concentración de 12,5 mg/ml que su mínimo halo de crecimiento fue de 8 mm, esto se dio en un 25% de los casos.

El mayor halo de crecimiento es decir de 25 mm lo tuvieron la concentración de 12,5 mg/ml y la concentración de 50 mg/ml, ambos en un 25% de los casos.

Por su parte, para el grupo control negativo (Alcohol 96°) se observó que los mayores halos fueron de 7 mm (50 % de los casos) y los menores de 6 mm (50% de los casos) con una media de 6,5 mm y para el grupo control positivo (Clorhexidina 0.12 %), se observa que el mayor halos de inhibición miden 9 mm (en el 25 % de los casos) y el menor de 8 mm ( 75 % de los casos) con una media de 8,25 mm.



**FIGURA N° 01 Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* por sus diferentes concentraciones.**

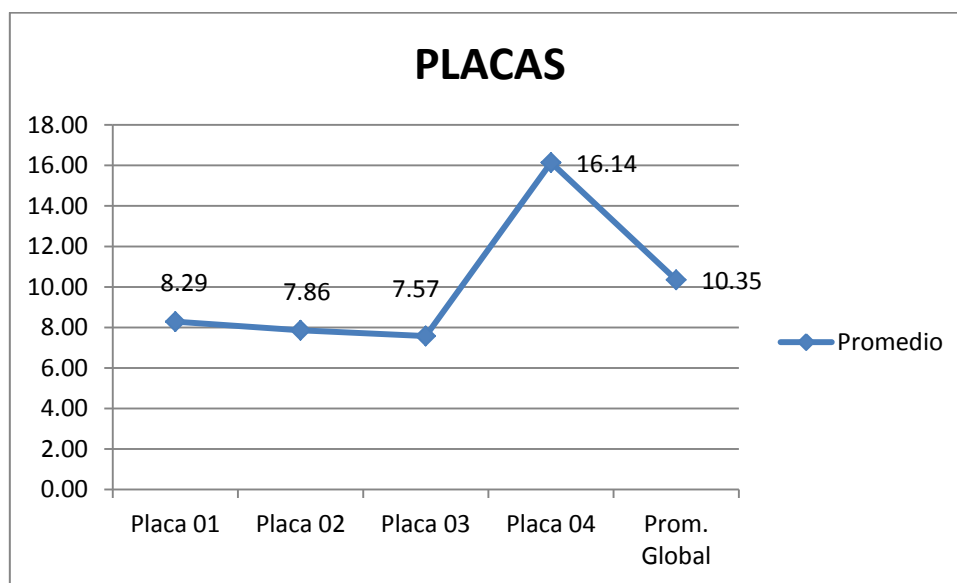


Se observa que la media de todas las concentraciones supera a la media del control positivo, excepto la concentración de 75 %.

Se puede apreciar que la concentración de 12,5 % presenta el mejor promedio y que la de 75% es la de menor promedio.

Si bien es cierto se puede decir que la *Caesalpinia spinosa* presenta efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*, esta no es significativa.

**FIGURA N° 02 Longitud promedio de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para las 4 placas.**



Se puede apreciar que en las cuatro placas hubo crecimiento de halo de inhibición, siendo la de menor promedio la placa número tres y la de mayor promedio la placa número cuatro.

No se menciona el promedio de la placa número cinco al no haber crecimiento de *Porphyromona gingivalis* en esta placa.

**TABLA N° 02 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 6.25 % de *Caesalpinia spinosa*.**

	Concentración Tara 6.25%	Control positivo (Clorhexidina)	Control negativo (Alcohol 96°)
<b>Media</b>	13	8	6,5
<b>Mínimo</b>	6	8	6
<b>Máximo</b>	24	9	7
<b>Desviación estandar</b>	7,94	0,50	1,15

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 6,25 % del extracto de *Caesalpinia spinosa*, fue 13 mm, superando al valor promedio del control positivo (Clorhexidina) y a la del control negativo (Alcohol 96°).

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Caesalpinia spinosa* 6,25 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

**TABLA N° 03 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 12,5% de *Caesalpinia spinosa*.**

	Concentración Tara 12.5%	Control positivo (Clorhexidina)	Control negativo (Alcohol 96°)
<b>Media</b>	14	8	6,5
<b>Mínimo</b>	8	8	6
<b>Máximo</b>	25	9	7
<b>Desviación estandar</b>	7,85	0,50	1,15

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 12.5 % del extracto de *Caesalpinia spinosa* fue 14 mm, superando al valor promedio de control positivo (Clorhexidina) y a la del control negativo (Alcohol 96°).

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Caesalpinia spinosa* 12,5 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

**TABLA N° 04 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 25 % de *Caesalpinia spinosa*.**

	Concentración Tara 25%	Control positivo (Clorhexidina)	Control negativo (Alcohol 96°)
<b>Media</b>	10	8	6,5
<b>Mínimo</b>	6	8	6
<b>Máximo</b>	17	9	7
<b>Desviación estandar</b>	4,83	0,50	1,15

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 25 % del extracto de *Caesalpinia spinosa* fue 10 mm, superando al valor promedio de control positivo (Clorhexidina) y a la del control negativo (Alcohol 96°).

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Caesalpinia spinosa* 25 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**TABLA N° 05 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 50 % de *Caesalpinia spinosa*.**

	Concentración Tara 50%	Control positivo (Clorhexidina)	Control negativo (Alcohol 96°)
<b>Media</b>	12,5	8	6,5
<b>Mínimo</b>	6	8	6
<b>Máximo</b>	25	9	7
<b>Desviación estandar</b>	8,5	0,50	1,15

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 50 % del extracto de *Caesalpinia spinosa* fue 12,5 mm, superando al valor promedio de control positivo (Clorhexidina) y a la del control negativo (Alcohol 96°).

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Caesalpinia spinosa* 50 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**TABLA N° 06 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* para la concentración de 75 % de *Caesalpinia spinosa*.**

	Concentración Tara 75%	Control positivo (Clorhexidina)	Control negativo (Alcohol 96°)
<b>Media</b>	7	8	6,5
<b>Mínimo</b>	6	8	6
<b>Máximo</b>	8	9	7
<b>Desviación estandar</b>	1,15	0,50	1,15

Los resultados indican que el valor promedio de la longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* frente a la concentración 75 % del extracto de *Caesalpinia spinosa* fue 7 mm, siendo inferior al valor promedio de control positivo (Clorhexidina), pero superior a la del control negativo (Alcohol 96°).

Al realizar el análisis de los resultados del grupo experimental (extracto de *Caesalpinia spinosa* 75 %) y el grupo control, mediante la prueba U Mann Whitney, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

**TABLA N° 07 Longitud de los halos de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* según las diferentes concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa***

Medida estadística	75%	50%	25%	12.5%	6.25%
<b>Media</b>	7	12,5	10	13,5	12,5
<b>Mínimo</b>	6	6	6	8	6
<b>Máximo</b>	8	25	17	25	24
<b>Desviación estandar</b>	1,15	8,50	4,83	7,85	7,94

Se observa que el mayor promedio de halo de inhibición lo presenta la concentración de 12,5 % (13,5 mm) y la mayor medida del halo de inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis* se dio frente a 50 % y 12,5% de la concentración de *Caesalpinia spinosa* (25 mm), seguida por la concentración de 6,25 % (24 mm).

Al hacerse la comparación de las diferentes concentraciones del extracto de *Caesalpinia spinosa* mediante la prueba de Kruskal - Wallis, se determinó que no existe una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**TABLA N° 08 Actividad antibacteriana del extracto de *Caesalpinia spinosa* sobre *Porphyromonas gingivalis***

	Concentraciones del extracto alcohólico de <i>C. spinosa</i>										Clorhexi dina 0.12%	Alcohol 96°		
	75 mg/ml		50 mg/ml		25 mg/ml		12.5 mg/ml		6.25 mg/ml		mg/ml		mg/ml	
	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%	n	n%
S. nula: < 8mm	2	50%	1	25%	1	25%	0	0%	1	25%	0	0%	4	100%
S. limite:														
8 -14 mm	2	50%	2	50%	2	50%	3	75%	2	50%	4	100%	0	0%
Sensibilidad media: 15-19 mm	0	0%	0	0%	1	25%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
Sumamente														
sensible:>=20mm	0	0%	1	50%	0	0%	1	25%	1	25%	0	0%	0	0%
Total	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%	4	100%

Se observa que los halos de inhibición del crecimiento bacteriano se encuentran en mayor cantidad en el rango de sensibilidad límite (8-14mm) que corresponden a la formación de 11 halos (tres halos corresponden a la concentración de 12,5 % y cuatro halos al control positivo).

## VIII. DISCUSIONES

La *Caesalpinia spinosa* “tara” posee dentro de su composición química taninos , flavonoides, péptidos, compuestos fenólicos lo que se evidencia en el trabajo realizado por López<sup>12</sup> el cual hizo un estudio de las propiedades antimicrobianas de la tara de diversas regiones del Perú encontrando que la acción antimicrobiana de la tara varía por su procedencia pero que los taninos, flavonoides y péptidos tenían la propiedad antimicrobiana sobre bacterias Gram positivas y Gram negativas, esto se demuestra en este trabajo en el que al realizarse el Tamizaje Fitoquímico se encontró flavonoides, glicosidos, taninos y compuestos fenólicos que serían los responsables del efecto antibacteriano de la tara sobre *Porphyromona gingivalis*.

En trabajos realizados por Iannacone<sup>16</sup> y Añanca<sup>23</sup> utilizaron para sus investigaciones extractos acuosos de *C.spinosa*, Iannacone lo usó a una concentración del 20 % sobre *Sitophilus zeamais* Moytschulsky y *Stegobium paniceum* no encontrando efecto significativo y Añanca lo usó a concentraciones de 17,5 ; 16,25 ; 15 ; 13,75 ; 12,5 ; 11,25 ; 10 ; 8,75 y 6,25 µg/ml, en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* determinando actividad antibacteriana “*in vitro*”. Para este trabajo se uso extracto alcohólico de *C. spinosa* a concentraciones de 75 % ; 50 % , 25 % ; 12,5 % ; 6,25 % tal como lo usara Huarino<sup>25</sup> quien en su estudio demostró la actividad antibacteriana de *C. spinosa* a las mismas concentraciones de este trabajo demostrando actividad antibacteriana sobre flora salival mixta,

Escobar<sup>22</sup> utilizó extracto alcohólico de *C.spinosa* sobre *Corynebacterium diphtheriae* encontrando que a mayor concentración aumenta el diámetro de halo de inhibición.

El presente estudio se llevó a cabo sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis*, principal constituyente en la periodontitis. Se utilizó la cepa ATCC 33277, tal como lo usara Ramos<sup>64</sup> el cual investigó la actividad antibacteriana, *in vitro*, del extracto de *Erythroxylum coca*, sobre la cepa ATCC *P. gingivalis*, mediante el test de difusión en Agar, los resultados indicaron que el extracto de *Erythroxylum coca* tiene sensibilidad límite para la máxima concentración del extracto (100 %) sobre el crecimiento, *in vitro*, de la bacteria *P. gingivalis*.

Para el enfrentamiento se uso el test de difusión con disco encontrando la presencia de halos inhibición en las cinco concentraciones los cuales superan al control negativo (alcohol), esta técnica fue usada por Liu<sup>14</sup> encontrando actividad inhibitoria sobre cepas Gram positivas, Escobar<sup>22</sup> utilizando esta misma técnica demostró que a mayor concentración se obtiene mayor halo de inhibición sobre *Corynebacterium diphtheriae*, de la misma manera Huarino<sup>63</sup> demostró mediante esta misma técnica que el efecto antibacteriano de *C.spinosa* sobre flora salival mixta es directamente proporcional a su concentración.

Este trabajo de investigación permitió un alcance preliminar al determinar *in vitro* que el extracto de *Caesalpinia spinosa*, tiene actividad antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivalis*, evaluado mediante el Test de difusión en Agar con discos. El efecto antibacteriano del extracto alcanzó un rango de actividad entre 8 y 25 mm sobre las cepas ATCC. La mayor actividad se da con la concentración de 12,5 % y la menor actividad con la de 75 %; sin embargo estas diferencias no fueron significativas.

Se demostró que cada una de las concentraciones del extracto tiene actividad antibacteriana, aunque no existe diferencia significativa entre ellas. Los valores de los halos de inhibición no guardan una relación proporcional con las concentraciones del extracto, este aparente sesgo podría deberse a una falla en la manipulación del extracto al momento de la dilución, pero estadísticamente se demostró que no existe diferencia significativa entre la actividad de cada una de las concentraciones por lo que no podemos hacer diferencia entre las concentraciones del extracto y su actividad sobre *Porphyromonas gingivalis*.

Se observó que el control positivo (Clorhexidina 0,12 %) presenta actividad antibacteriana sobre las cepas adquiridas de la colección ATCC 33277. Los resultados obtenidos demuestran su actividad antibacteriana con formación de halos de inhibición que varían entre 8 y 9 mm y una media de 8,25 mm.

## IX. CONCLUSIONES

1. La concentración del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25 mg/ml; 50 mg/ml y 75 mg/ml 6,25 mg/ml a 75 mg/ml) tiene efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivalis*, aunque el aumento de la concentración no guarda una relación proporcional con el aumento de diámetro del halo de inhibición.
2. El efecto inhibitorio obtenido por las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6,25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 25mg/ml ; 50mg/ml y 75 mg/ml) son de mayor diámetro que los obtenidos por los grupos control (Clorhexidina 0,12% y alcohol 96°).
3. Las diferentes concentraciones del extracto alcohólico de *C. spinosa* (6,25 mg/ml ; 12,5 mg/ml ; 25 mg/ml ; 50 mg/ml y 75 mg/ml) no tienen una diferencia estadísticamente significativa entre ellas y con los grupos control (Clorhexidina 0.12% y alcohol 96°).
4. A pesar de no existir diferencia significativa entre las cinco concentraciones se encontró mejores resultados de inhibición para la concentración de 12,5 % del extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa*.

## X. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios con *Caesalpinia spinosa*, tomando muestras de diferentes regiones del Perú.
2. Continuar con la investigación sobre *Caesalpinia spinosa* enfrentándolas a otras bacterias periodontopatógenas.
3. Realizar estudios con cepas de *Porphyromonas gingivalis* y otras especies bacterianas asociadas a la progresión de la enfermedad periodontal, aisladas de pacientes de nuestro medio.
4. Estandarizar el extracto y los sistemas de medios de cultivos, para el estudio de la actividad antibacteriana del *Caesalpinia spinosa*; pues la especie y procedencia del extracto, así como también los agares y caldos de cultivo, tienen influencia en la actividad biológica de éste.
5. Analizar la composición química del extracto de *Caesalpinia spinosa*, y estudiar los componentes que estarían actuando en las propiedades antibacterianas.
6. Se recomienda el uso de pruebas de dilución y microdilución en medios líquidos, para evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de bacterias anaerobias exigentes como *Porphyromonas gingivalis*,

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Font Quer P. Plantas medicinales: El Dioscórides renovado. 3ra ed. Barcelona-España: Labor. 1992: 98-100.
2. Garrido VH. Efecto Antimicrobiano de la *Caesalpinia spinosa* (TARA) y tetraciclina frente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Tesis para obtener el Título de Cirujano Dentista. Fac de Odontol:USMP. Lima 2003.
3. Pamo RO. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2009; 26(3):32-43.
4. Oliveira M, Velásquez D, Bermúdez A. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. 2005; 30(8): 453-459.
5. Waizel-Bucay J, Martinez I. Plantas empleadas en odontalgias I. Medigraphic (serial de internet). 2006 Jul. 10 (citado: 2007 Set.-Oct) 64(5): 173-186. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2007/od075.pdf>
6. Agapito T, Sung I. Plantas Medicinales. 7ma ed. Lima-Perú: Isabel. 2000:53.
7. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica, métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima – Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994:25.
8. De La Cruz P. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa*. Rev del Inst de Investig FIGMM. 2004; 7(14):64-73.
9. Infantes AY. Tratamiento de la gingivitis marginal crónica con pasta dental de *Caesalpinia spinosa* (Molina) KUNTZE “TARA” en niños de 8 a 10 años. Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista. Fac Odontol: USMP. Lima. 2004.
10. Clemente A. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas gingivalis*, estudio in vitro. Tesis para obtener el Título de Cirujano Dentista. Fac de Odontol: UNMSM. Lima 2012.

11. Weberbauer A. El mundo vegetal de los andes peruanos: Estudio fitogeográfico. Estación Experimental Agrícola de la Molina. Dirección de Agricultura, MINAGRI. Lima-Perú. 1945.
12. Lopez FC. Acción antimicrobiana *Caesalpinia tintórea* (Molina) Kuntze o Tara de diferentes regiones del Perú. Rev CLEIBA.1998; 1(1):27-31.
13. Rojas RJ. Estudio clínico experimental del tratamiento de la gingivitis crónica con *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze- “Tara”- Centro de salud Max Arias Shereiber. Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista. Fac Odontol: USMP. Lima. 1998.
14. Liu H, Lengual L, León G, La Torre C, Huapaya J, Chauca J. Evaluación de la Actividad Antibacteriana *in vitro* de los Extractos de *Caesalpinia spinosa* “tara” y *Eucalyptus* sp. “eucalipto”. Rev Horiz Med. 2002; 2(1-2):40-44.
15. Ferrreira J, Cardoso M, Estevao De Souza P. Inhibitory Effect of *Caesalpinia spinosa* Leaflets Crude Extract of *Fusarium solani* and *Phoma tarda*. J Scient Biolgl. 2005; 27(2): 185-188.
16. Iannacone J, Ayala H, Román A. Efectos Toxicológicos de Cuatro Plantas sobre el Gorgojo del Maíz *Sitophilus zeamais* Motschlsky y sobre el Gorgojo de las Galletas *Stegobium paniceum* en Perú. Rev Gayana. 2005; 69(2):234-240.
17. Kloucek P, Polezny Z, Svobodova B, Vlkova E, Kokoska I. Antibacterial Screening of Some Peruviam Medicinal Plants Used in Callería District. J of Ethnopharmacol. 2005; 99(2):309-312.
18. Shibata H, Kondo K, Katsuyama R, Kawazoe K, Murakami K, Takaishi Y. Alkyl Galletas, Intensifiers of beta-Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49(2):549-555.
19. De La Cruz M. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (MOLINA) Kuntze “Tara” sobre la viabilidad de *Streptococcus*  $\alpha$ -hemolítico. Tesis Maestral. Fac de Farmacia y Bioquímica: UNT. Trujillo. 2009.
20. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. ILSMRs (Intensifier of beta-Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara



*Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. J Phytotherapy And Phytopharmacology. 2006; 13: 209-212.

21. Mendoza W. Estudios de estructura y función de una lectina aislada de semillas de *Caesalpinia spinosa* (MOLINA) Kuntze. Rev IDESIA. 2007; 25 (2):49-58.

22. Escobar Bl. Efecto in vitro de diferentes concentraciones de extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze, sobre la viabilidad de *Corynebacterium diphtheriae*. Rev Med Vallejana. 2008; 5(1):28-37.

23. Añanca E. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Fac Ciencias Médicas Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica: UNJBG. Tacna. 2009.

24. Sampaio C. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. J Of Ethnopharmacology. 2009; 124(2):289-294.

25. Huarino M. Efecto Antibacteriano de *Caesalpinia Spinosa* (Tara) Sobre Flora Saliva Mixta. Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista. Fac de Odontol: UNMSM. Lima. 2011.

26. Guevara J. Historia de la Química en el Perú. Concytec, Lima. 1993, pp.29, 176.

27. Cabello Liu I. Monografía para el cultivo de la tara *Caesalpinia Spinosa* (Molina) Kuntze. Perúbiodiverso (serial de internet). Lima, Perú. 2009:5. Disponible en: <http://perubiodiverso.pe/assets/Monograf%C3%ADa-del-cultivo-de-la-tara1.pdf>.

28. Kondo K, Takaishi Y, Shibata H, Higuti T. Ilsmrs (Intensifier of beta-Lactam Susceptibility in Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*) from Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. J Phytotherapy And Phytopharmacology. 2006; 13:209-212.

29. Siccha A, Lock O, Molina M. Determinación Cuantitativa de Galactomananos en las Gomas de Tara, Charán y Uña de Gato, por Cromatografía de Gases. Bol Soc Quim del Perú. 1994;39-43.
30. Greulach A, Adams J. Las plantas: Introducción a la botánica moderna. 3ra ed. México DF. LIMUSA. 2000:60.
31. Cueva A. Enciclopedia plantas medicinales: Propiedades y usos. Ed. A.F.A Lima- Perú.2003.
32. Mantilla J. Manejo racional de plantas medicinales y aromáticas en terrenos marginales de la comunidad campesina de Viacha, anexo Tuksan Grande, Valle Sagrado de los Incas. Proyecto de IEPLAM. 2002;36-39.
33. Kuklinski C. Farmacognasia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1ra ed. Barcelona-España: Omega. 2000:112-114.
34. De La Cruz P. Aprovechamiento integral y racional de la tara *Caesalpinia spinosa*. Rev del Instituto de Investigación FIGMM. 2004; 7(14):64-73.
35. Flemming T. Periodontitis. Ann Periodontol.1999; 4(1): 32-37.
36. Slots J, Bragd L, Wikstrom M, Dahlen G. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. J Clin Periodontol.1986; 13: 570-577.
37. Socransky S, Haffajee A. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. Periodontol 2000.1994; 5: 7-25.
38. Page RC, Schroeder HE. Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. J Periodontol.1981; 52: 477-491.
39. Gamonal JA, López NJ, Aranda W. Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 years old population in Santiago, Chile. Int Dent J. 1998; 48: 96-103.

40. Beck J, Offenbacher S. Periodontitis: A risk factor coronary heart disease?. Ann of Periodontol.1998; 3: 127-141.
41. Genco RJ, Evans RT, Ellison SA. Dental research in microbiology with emphasis on periodontal disease. J Am Dent Assoc.1969; 78(5): 1016-1036.
42. Ellison SA. Oral bacteria and periodontal disease. J Dent Res.1942; 49(2):198-202.
43. Socransky SS, Manganiello AD, Propas D, Oram V, Van Houte J. Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. J Periodontal Res.1977; 12(2):90-106.
44. Consensus report. Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. Ann Periodontol.1996; 1(1): 926-32.
45. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. Periodontol 2000.1994; 5: 78-111.
46. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontol 2000.1999; 20:136-167.
47. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontol 2000.1997; 4: 9-11.
48. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. J Periodontal Res.1991; 26(3 Pt 2): 230-242.
49. Makela M, Salo T, Uitto VJ, Larjava H. Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) of the Oral Cavity: Cellular Origin and Relationship to Periodontal Status). J Dent Res.1994; 73(8): 1397-1406.

50. Preshaw PM, Hefti AF, Jepsen S, Etienne D, Walker C, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review. *J Clin Periodontol*.2004; 31(9): 697-707.
51. Lamont R, & Jenkinson H. Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromona gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1999;62(4):1244-1263.
52. Socransky S, Haffajee A. Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000* .2002;28: 12-55.
53. Walker CB. The acquisition of antibiotic resistance in the periodontal flora. *Periodontol 2000* .1996;10: 78-88.
54. Ishikawa I, Baheni P. Nonsurgical periodontal therapy - where do we stand now? *Periodontol 2000*.2004; 36: 9-13.
55. Holt S, Kesavalu L, Walker S. & Genco C. Virulence factors of *Porphyromona gingivalis*. *Periodontol 2000* .1999;20:168-238.
56. Genco RJ, Zambon JJ, and Christersson LA. The origin of periodontal infection. *Adv Dent Res* .1998; 2(2): 245-259.
57. Beck J, Offenbacher S. Periodontitis: A risk factor coronary heart disease?. *Ann of Periodontol* .1998; 3: 127-141.
58. Ramos PD, Moromi NH, Martinez CE. *Porphyromonas gingivalis*: patógeno relevante en la periodontitis crónica. *Odontol Sanmarquina*.2011; 14(1): 34-38.
59. Shah HN, Hardie JM. Taxonomic studies on *Bacteroides melaninogenicus*, *Bacteroides oralis*, *Bacteroides ruminicola* and related organisms. *Res Clin Forums*.1979; 1: 51–53.
60. Coykendall AL, Kacmarek FS, Slots J. Genetic heterogeneity in *Bacteroides*. *Int J Sys Bacteriol* .1980; 30: 559–564.

61. Okuda K, Takazoe I. The Role of *Bacteroides Gingivalis* in Periodontal Disease. Adv Dent Res.1988; 2(2): 260-268.
62. Lamont R, & Jenkinson H. Life below the gum line: Pathogenic Mechanism of *Porphyromonas gingivalis*. Microbiol Mol Biol Rev. 1999; 62(4):1244-1263.
63. Norman G, Streiner D. Bioestadística. Madrid: Mosby/Doyma. 1996: Capitulo 12: 100-107. Capitulo 16: 150-152.
64. Ramos A. Actividad antibacteriana del extracto de *Erythroxylum coca* sobre *Porphyromonas Gingivalis*, estudio in vitro. Tesis para optar el Título de Cirujano Dentista. Fac de Odontol: UNMSM. Lima 2012.44p.

## XII. GLOSARIO DE TÉRMINOS

**Anaerobio:** Organismo que se desarrolla en condiciones donde existe una mínima o nula cantidad de oxígeno.

**Antibacteriano:** Relativo a una sustancia que destruye bacterias o inhibe su crecimiento o reproducción.

**Extracto:** es la sustancia que en forma concentrada se extraerá de otra de la cual conservará sus propiedades esenciales y constitutivas.

**Extracto Alcohólico:** Consiste en poner en contacto la droga con un disolvente (en este caso alcohol), en proporción variable, capaz de solubilizar los principios activos.

**Halo de Inhibición:** Zona alrededor de un disco en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen.

**Efecto antibacteriano:** Es la inhibición en el desarrollo o crecimiento de la bacteria.

**Screening fitoquímica:** Análisis cualitativo que se le realiza a los extractos de plantas naturales para identificar los compuestos (por ej.: Alcaloides, Taninos, Flavonoides, Quinonas, etc.) que contiene dicho extracto.

**Phoma:** Es un hongo que en estados muy avanzados de infección, forma pequeñas estructuras circulares sobre las lesiones en tallo y hojas en las plantas. Se encuentra en los tejidos jóvenes de las plantas.

**Glabro:** Son denominaciones dadas a organismos, o a sus partes, que no presentan pelos, tricomas o estructuras similares en su superficie externa.

**Concentración mínima inhibitoria :**En microbiología, es la concentración más baja de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de un microorganismo después de su incubación.

**Concentración mínima letal:** Es la concentración mínima de un antimicrobiano que mata a un microorganismo patógeno.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS MEDIDA DE HALO DE INHIBICIÓN EN LA PLACA TSA

	Extracto alcoholico de <i>Caesalpinia spinosa</i>					Control Positivo Clorhexidina 0.12%	Control Negativo Alcohol 70°
	6.25 Mg/ml	12.5 Mg/ml	25 Mg/ml	50 Mg/ml	75 Mg/ml		
P.gingivalis (Muestra Nº1)							
P.gingivalis (Muestra Nº2)							
P.gingivalis (Muestra Nº3)							
P.gingivalis (Muestra Nº4)							
P.gingivalis (Muestra Nº5)							



## ANEXO 2

### TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE *CAESALPINIA SPINOSA* (tara)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, Decana de América)



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

INSTITUTO DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y RECURSOS NATURALES+

SECCION QUIMICA ORGANICA APLICADA A LA FARMACIA

TAMIZAJE FITOQUIMICO

Muestra : Extracto hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara)

ANALITO	RESULTADOS			
Alcaloides	-			
Triterpenos y Esteroides	-			
Saponinas	-			
Compuestos fenólicos	+++			
Taninos	++			
Aminoácidos libres	+			
Quinonas	++			
Lactonas sesquiterpénicas	-			
Glicósidos	+			
Flavonoides	+			
Leyenda	(+)	(++)	(+++)	(-)
	Trazas	Cantidad moderada	Cantidad abundante	No detectable

Lima, 024 Octubre del 2013

Q.F. Fritz Choquesillo Peña

Jefe Laboratorio Terpenos y Esteroides

## ANEXO 3

### Constancia del Museo de Historia Natural



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Diversidad"

#### CONSTANCIA N°. 333-USM-2012

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (Semillas), recibida de **Alex MONTENEGRO CHIPANA**, de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; ha sido estudiada y clasificada como: ***Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze***; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUB CLASE: ROSIIDAE**

**ORDEN: FBALES**

**FAMILIA: FABACEAE**

**GENERO: *Caesalpinia***

**ESPECIE: *Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze***

Nombre vulgar: "Tara".

Determinado por: Blgo. Severo Baldeón.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 16 de octubre de 2012

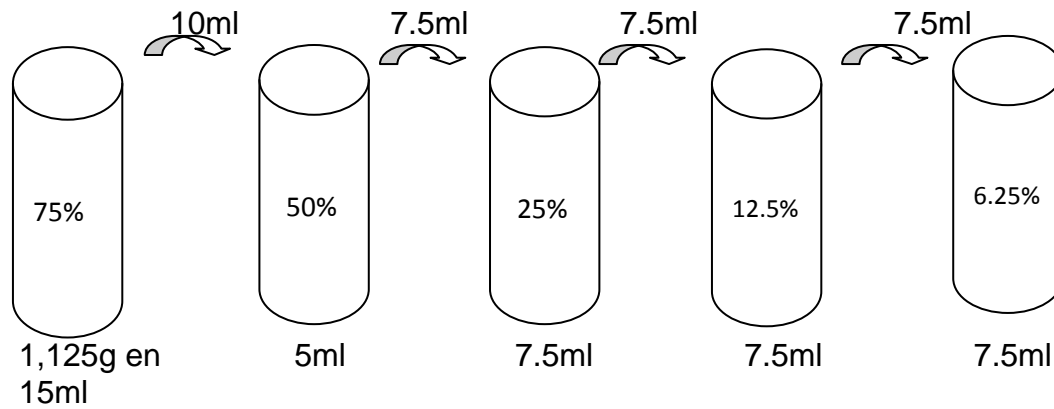


Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS  
JEFA DEL HERBARIO DE SAN MARCOS (USM)

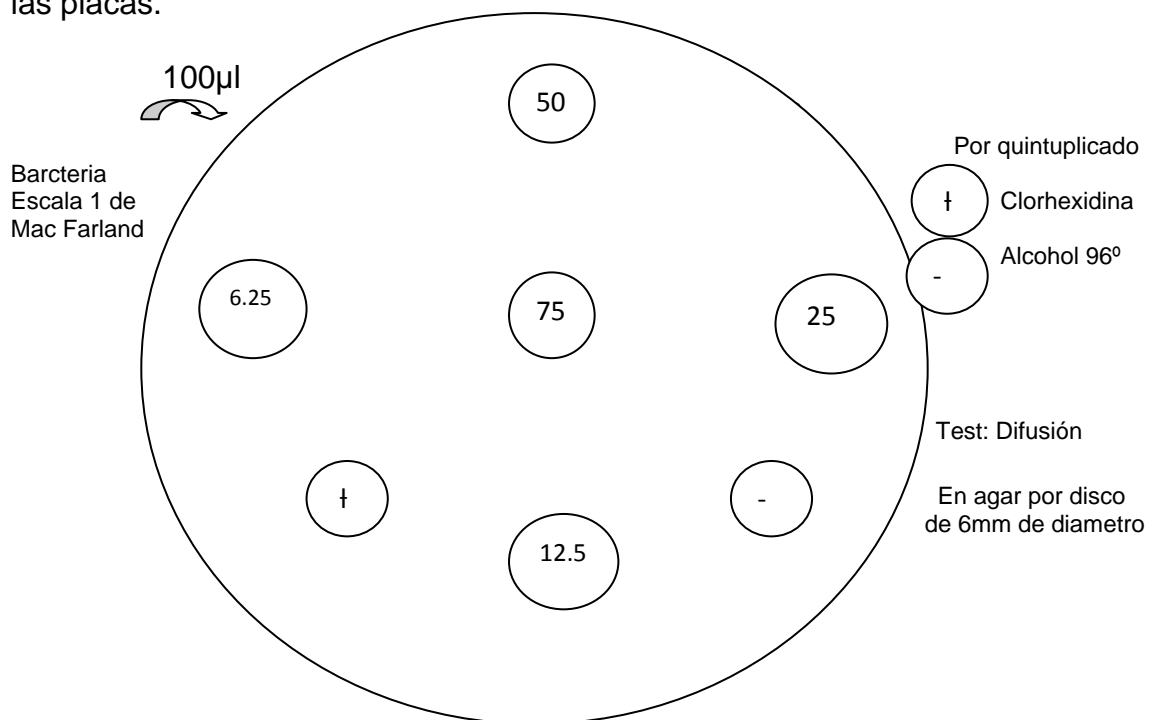
## ANEXO 4

### Enfrentamiento de *P.gingivalis* con *C.spinosa*

- Preparación del extracto
- Dilución del extracto con agua bidestilada en 5 tubos



- Se preparan 5 placas agar sangre y se hizo la siembra por diseminación de *P.gingivalis* por diseminación.
- Se impregnan los discos de 6mm de diámetro por saturación y se colocan en las placas.





**Figura 03. Planta de *Caesalpinia spinosa***



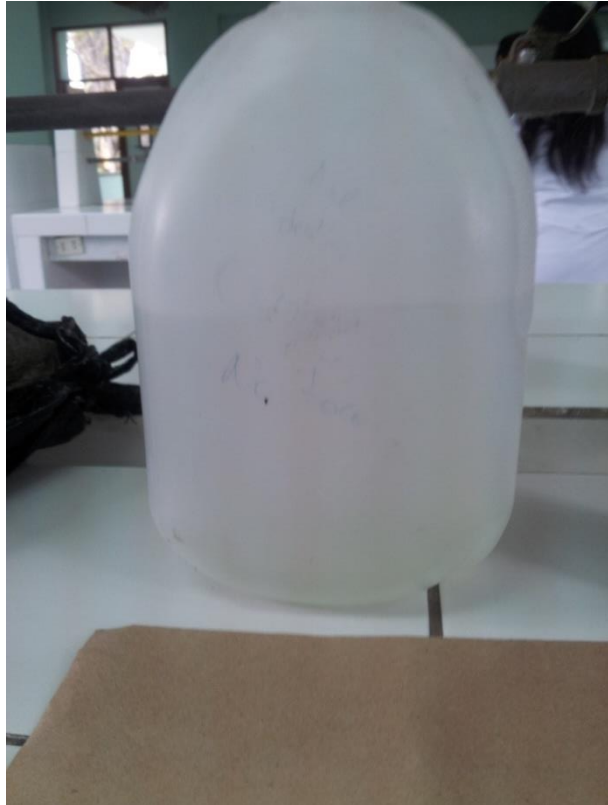
**Figura 04. Vainas de *C.spinosa* recolectadas**



**Figura 05. Lavado de las vainas de *C.spinosa***



**Figura 06.  
Dilución para la desinfección de las vainas de *C.spinosa***



**Figura 07. Agua destilada para lavado final de *C.spinosa***



**Figura 08. Área de secado**





**Figura 09. Separación de las semillas de las vainas**



**Figura 10. Pesado del polvo de vainas de *c.spinosa***



**Figura 11. Introducción del polvo de *C.spinosa* en un frasco ámbar**



**Figura 12. Colocación del solvente dentro del frasco**





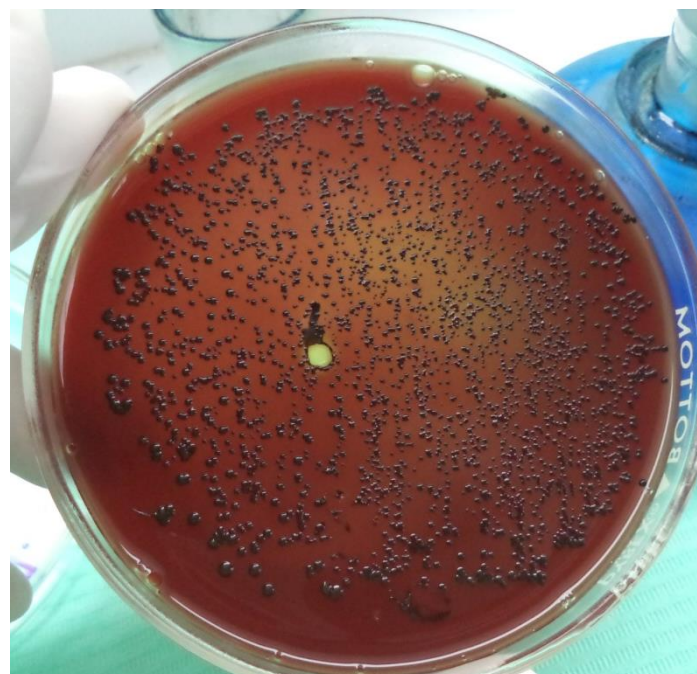
**Figura 13. Proceso de filtrado**



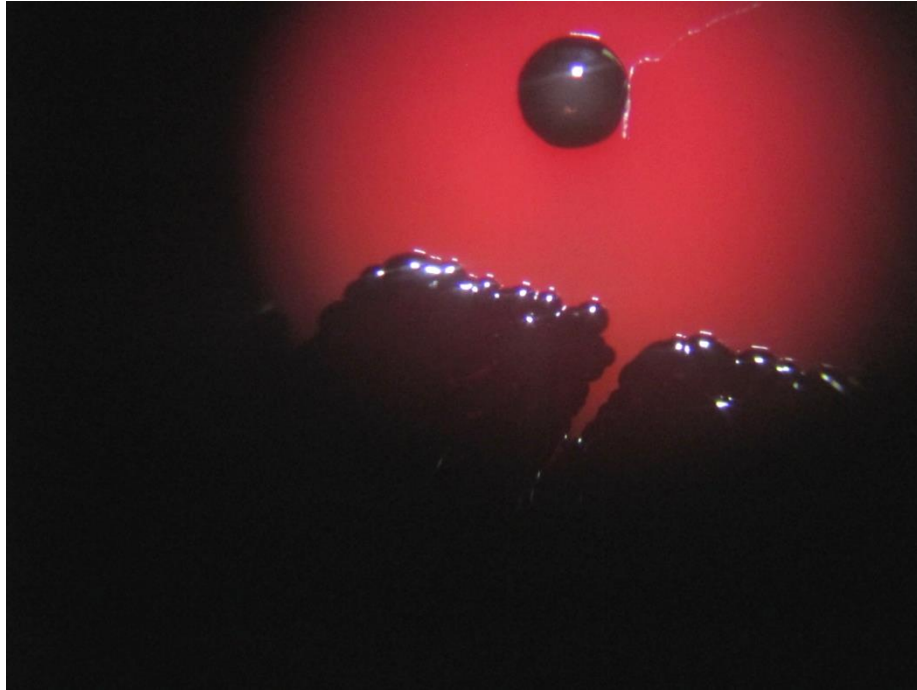
**Figura 14. Extracto listo para ser secado por liofilización**



**Figura 15. Preparación de las cinco concentraciones**



**Figura 16. Colonias de *P.gingivalis* una semana después de su activación**

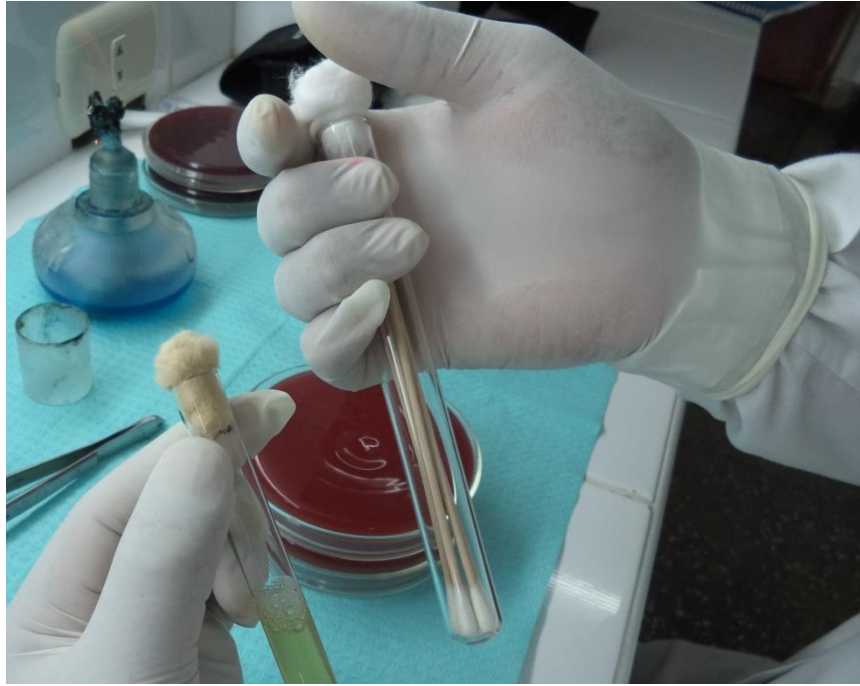


**Figura 17. Colonia de *Porphyromonas gingivalis* a mayor aumento**



**Figura 18. Mesa de trabajo para el enfrentamiento**





**Figura 19. Tubo con hisopos estériles**



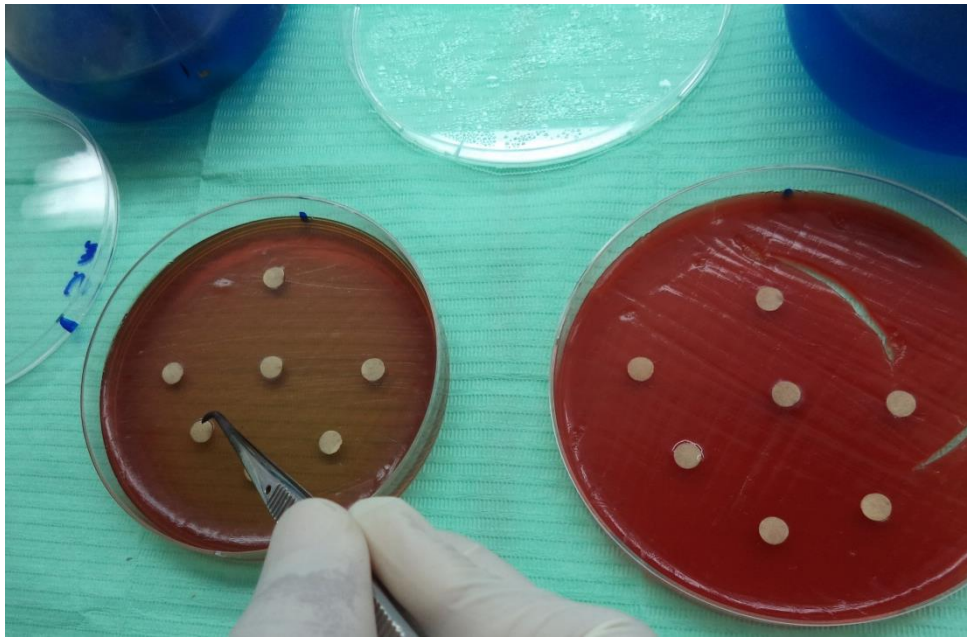
**Figura 20. Introducción del hisopo dentro del tubo que contiene la cepa activada**



**Figura 21. Siembra en las placas agar por diseminación**



**Figura 22. Contacto de lo discos con el extracto por saturación**



**Figura 23. Colocación de los discos dentro de las placas sembradas**



**Figura 24. Preparación de las placas sembradas para incubarlas.**





**Figura 25. Colocación de las placas dentro de  
Jarra de Anaerobiosis**



**Figura 26. Colocación en el horno por siete días**



**Figura 27. Formación de halos de inhibición**